

CONCENTRACIÓN DE VITAMINA C, COMPUESTOS FENÓLICOS Y CAPACIDAD  
ANTIOXIDANTE EN LECHE DE MADRES DE SAN LUIS DE LA PAZ, GTO.

2015

ADRIANA  
MARTÍNEZ DÍAZ



Universidad Autónoma de Querétaro

Facultad de Ciencias Naturales

**CONCENTRACIÓN DE VITAMINA C, COMPUESTOS FENÓLICOS  
TOTALES Y CAPACIDAD ANTIOXIDANTE EN LECHE DE  
MADRES LACTANTES DE SAN LUIS DE LA PAZ, GTO.**

Tesis

Que como parte de los requisitos para obtener el grado de  
Licenciada en Nutrición

Presenta:

ADRIANA MARTÍNEZ DÍAZ

Dirigida por:

DRA. KARINA DE LA TORRE CARBOT

Juriquilla, Querétaro. Junio 2015



Universidad Autónoma de Querétaro  
Facultad de Nutrición  
Licenciatura en Nutrición

## **CONCENTRACIÓN DE VITAMINA C, COMPUESTOS FENÓLICOS TOTALES Y CAPACIDAD ANTIOXIDANTE EN LECHE DE MADRES LACTANTES DE SAN LUIS DE LA PAZ, GTO.**

### **TESIS**

Que como parte de los requisitos para obtener el grado de Licenciada en Nutrición

#### **Presenta:**

Adriana Martínez Díaz

#### **Dirigido por:**

Dra. Karina de la Torre Carbot

### **SINODALES**

Dr. Jorge Luis Chávez Servín

Presidente

Dra. Margarita Teresa de Jesús García Gasca

Secretario

Dra. Olga Patricia García Obregón

Vocal

L.N. Carolina Alvarez Ramírez

Suplente

\_\_\_\_\_  
Firma

\_\_\_\_\_  
Firma

\_\_\_\_\_  
Firma

\_\_\_\_\_  
Firma

\_\_\_\_\_  
Nombre y Firma  
Director de la Facultad

\_\_\_\_\_  
Nombre y Firma  
Director de Investigación y  
Posgrado

Centro Universitario

Querétaro, Qro.

Mayo 2015

México

## Índice

I.	INTRODUCCIÓN .....	10
II.	REVISION DE LITERATURA.....	12
	2.1 Antecedentes	
	2.2 Composición de la leche materna.....	12
	2.2.1 Macronutrientes	
	2.2.2 Micronutrientes	
	2.3 Vitamina C.....	18
	2.4 Compuestos Fenólicos .....	24
	2.5 Estrés oxidativo en neonatos y capacidad antioxidante en la leche materna .....	32
	2.6 Alimentación durante la lactancia materna.....	35
	2.7 Programa oportunidades y suplemento Nutrivida.....	36
	2.8 Metodología utilizada para la determinación de vitamina C, compuestos fenólicos totales y capacidad antioxidante en muestras de leche materna.....	28
III.	JUSTIFICACIÓN .....	41
IV.	HIPÓTESIS.....	42
V.	OBJETIVOS.....	42
VI.	METODOLOGÍA.....	43
	6.1 Diseño del estudio.....	43
	6.2 Población de estudio y ubicación espacio- temporal.....	43
	6.3 Criterios de selección.....	44
	6.3.1 Criterios de inclusión	
	6.3.2 Criterios de exclusión	
	6.3.3 Criterios de eliminación	
	6.4 Procedimientos y estrategias de trabajo.....	45
	6.4.1 Grupos de estudio	
	6.4.2 Aplicación de encuestas generales	
	6.4.3 Aplicación de encuestas alimentarias	
	6.4.4 Toma de medidas antropométricas	
	6.4.5 Obtención de las muestras de leche	
	6.5 Métodos.....	49

6.5.1	Determinación del contenido total de vitamina C por HPLC	
6.5.2	Determinación de capacidad antioxidante por método de FRAP	
6.5.3	Determinación de capacidad antioxidante por método de DPPH.	
6.5.4	Determinación de los compuestos fenólicos totales.	
6.5.5	Análisis estadístico	
VII.	RESULTADOS Y DISCUSIONES.....	58
7.1	Características de la población y de las muestras estudiadas.	
7.2	Determinación del consumo estimado de vitamina C de acuerdo al recordatorio de 24 horas.	
7.3	Determinación de la relación entre la concentración de vitamina C, compuestos fenólicos totales y capacidad antioxidante en leche materna.	
7.4	Determinación de la concentración de vitamina C estimado de acuerdo al recordatorio de 24 horas comparado por zona, consumo del suplemento Nutrivida y programa oportunidades.	
7.5	Determinación de la relación que existe entre la concentración de vitamina C, compuestos fenólicos totales y capacidad antioxidante con los gramos de frutas y verduras consumidos por las madres participantes.	
7.6	Determinación de la relación que existe entre la concentración de vitamina C, compuestos fenólicos totales y capacidad antioxidante y la concentración de vitamina C determinada en frutas y verduras consumidos por las madres participantes.	
7.7	Determinación de la relación existente entre la concentración de vitamina C, compuestos fenólicos totales y capacidad antioxidante en leche materna por zonas, consumo del suplemento nutrivida y el programa nutrivida.	
7.8	Determinación de las correlaciones existentes entre capacidad antioxidante vitamina C y compuestos fenólicos totales.	
VIII.	DISCUSIONES GENERALES .....	75
IX.	CONCLUSIONES.....	77
X.	REFERENCIAS.....	78
XI.	ANEXOS.....	83

## Índice de tablas

Tabla 1 Composición nutrimental promedio de leche materna de las tres etapas.....	14
Tabla 2 Vitaminas.....	19
Tabla 3 Ingesta diaria recomendada de vitamina C, según el grupo de edad.....	22
Tabla 4. Contenido de vitaminas en calostro y leche madura.....	24
Tabla 5. Clasificación de los compuestos fenólicos.....	28
Tabla 6. Composición nutrimental del suplemento Nutrivida.....	38
Tabla 7. División de la población según el consumo estimado en gramos de frutas y verduras de acuerdo al recordatorio de 24 horas.....	57
Tabla 8. División de la población según el consumo estimado en miligramos de vitamina C de acuerdo al recordatorio de 25 horas.....	57
Tabla 9. Características generales de la población.....	58
Tabla 10. División de la población de acuerdo a la zona que pertenecen, el apoyo del programa oportunidades y suplemento nutrivida.....	59
Tabla 11. Consumo estimado de frutas y verduras de acuerdo al recordatorio de 24 horas.....	59
Tabla 12 Consumo estimado de vitamina C de acuerdo al consumo de frutas y verduras registrado en el recordatorio de 24 horas.....	60
Tabla 13. Contenido de vitamina C, compuestos fenólicos totales y capacidad antioxidante por los métodos DPPH y FRAP en leche materna.....	61
Tabla 14. Comparación del contenido de vitamina C (mg/día) de acuerdo al recordatorio de 24 horas entre zona urbana y rural, el consumo del suplemento Nutrivida y la participación al programa. ....	63

Tabla 15. Comparación del contenido de vitamina C (mg/día) de acuerdo al recordatorio de 24 horas + 100mg (Nutrívida) entre zona urbana y rural, el consumo del suplemento Nutrívida y la participación al programa.....	64
Tabla 16. Contenido de vitamina C, compuestos fenólicos totales y capacidad antioxidante en leche materna de acuerdo al consumo de frutas.....	65
Tabla 17. Contenido de vitamina C, compuestos fenólicos totales y capacidad antioxidante en leche materna de acuerdo al consumo de verduras.....	66
Tabla 18. Contenido de vitamina C, compuestos fenólicos totales y capacidad antioxidante en leche materna de acuerdo al consumo de frutas y verduras.....	67
Tabla 19. Contenido de vitamina C, compuestos fenólicos totales y capacidad antioxidante en leche materna de acuerdo a la concentración de vitamina C determinada en frutas.....	68
Tabla 20. Contenido de vitamina C, compuestos fenólicos totales y capacidad antioxidante en leche materna de acuerdo a la concentración de vitamina C determinada en verduras.....	69
Tabla 21. Contenido de vitamina C, compuestos fenólicos totales y capacidad antioxidante en leche materna de acuerdo a la concentración de vitamina C determinada en frutas y verduras.....	70
Tabla 22. Comparación del contenido de vitamina C, Compuestos fenólicos totales, capacidad antioxidante por los métodos DPPH y FRAP entre la leche de las madres que pertenecen a las zonas rural y urbana.....	71
Tabla 23. Comparación del contenido de vitamina C, compuestos fenólicos totales y capacidad antioxidante entre la leche de las madres que cuentan con el programa oportunidades y las que no.....	72
Tabla 24. Comparación del contenido de vitamina C, compuestos fenólicos totales, capacidad antioxidante entre la leche de las madres que consumen el suplemento NUTRÍVIDA y las que no.....	72
Tabla 25. Correlaciones de Pearson entre las distintas variables estudiadas.....	75

## Índice de figuras

Figura 1 Estructura de ácido ascórbico.....	20
Figura 2 Las agliconas y los compuestos fenólicos simples libres, los flavonoides (quercetina y genisteína) y los ácidos fenólicos pueden ser absorbidos a través de la mucosa del intestino delgado.....	30
Figura 3 Esquema general del metabolismo de los polifenoles.....	31
Figura 4. Diagrama del método para la determinación de vitamina C en leche materna por el HPLC.....	50
Figura 5. Diagrama del método FRAP para la determinación de capacidad antioxidante en leche materna.....	52
Figura 6. Diagrama del método DPPH para la determinación de capacidad antioxidante en leche materna.....	54
Figura 7. Diagrama del método de Folin Cicouteau para la determinación de compuestos fenólicos totales en leche materna.....	56

## RESUMEN

La leche humana es un líquido de gran complejidad biológica, constituido por nutrimentos, sustancias inmunológicas, hormonas, enzimas, factores de crecimiento, células inmunoprotectoras; que la hacen nutricional e inmunológicamente apta para que el niño sea alimentado con ella en forma exclusiva durante los primeros seis meses de vida. Se sabe que la concentración de vitamina C en la leche materna está relacionada con el estado vitamínico de la madre. Cuanta más cantidad toma la madre, mayor es la concentración en la leche materna. Objetivo: evaluar las concentraciones de vitamina C, compuestos fenólicos y capacidad antioxidante en madres lactantes de San Luis de La Paz, Guanajuato. En nuestro estudio se evaluaron las concentraciones de vitamina C, Compuestos fenólicos totales y capacidad antioxidante en la leche de las madres participantes. Además se hizo un recordatorio de 24 horas y se estimó su contenido de vitamina C de acuerdo a las frutas y verduras consumidas. Resultados: Los valores en leche de los parámetros estudiados fueron los siguientes: Vitamina C:  $44.30 \pm 22.45$  mg/ml, Compuestos fenólicos totales:  $54.29 \pm 25.71$  mg AG/L, Capacidad Antioxidante por el método de FRAP:  $3.76 \pm .56$   $\mu$  AA/ml y por el método de DPPH:  $9.88 \pm 3.13$   $\mu$  AA/ ml. Consumo de frutas y verduras en gramos:  $204.65 \pm 32.04$  g/día y concentración de vitamina C estimada  $198.59 \pm 36.37$  mg/día.

## SUMMARY

Human milk is a liquid of great biological complexity, constituted by nutrients, immune substances, hormones, enzymes, growth factors, immune-cells; that make nutritional and immunological suitable for the child can be fed to it exclusively for the first six months of life. It is known that the concentration of vitamin C in breast milk is related to vitamin status of the mother. The more amount takes the mother, the higher the concentration in breast milk. Objective: To evaluate the Concentrations of vitamin C, phenolic compounds and antioxidant capacity in lactating mothers from San Luis de la Paz, Guanajuato. In our study, the concentrations of vitamin C, total phenolic compounds and antioxidant capacity of participating mothers milk, was evaluated. In addition, a 24 hour recall was made and its vitamin C content according to consumption of fruits and vegetables were estimated. Results: Vitamin C:  $44.30 \pm 22.45$  mg / ml, total phenolic compounds: AG  $54.29 \pm 25.71$  mg / L, antioxidant capacity by FRAP method: AA  $3.76 \pm 0.56$   $\mu$  / ml and DPPH method:  $9.88 \pm 3.13$  AA  $\mu$  / ml. Consumption of fruits and vegetables in grams:  $204.65 \pm 32.04$  g / day and vitamin C concentration estimated  $198,59 \pm 36.37$  mg / day.

## **I.INTRODUCCIÓN**

La leche materna es considerada el alimento ideal para neonatos a término y pre-término, idealmente debe ofrecerse de forma exclusiva hasta los 6 meses de edad, ya que aporta los nutrimentos necesarios para un correcto desarrollo y crecimiento; así mismo mejora las defensas, la digestión y absorción de nutrientes, su función gastrointestinal y desarrollo neuronal. (Romeu-Nadal et al. 2006)

Durante los primeros estadios del desarrollo del lactante, los factores nutricionales presentan efectos importantes e inmediatos sobre el crecimiento, composición y funciones corporales, ya que el recién nacido muestra escasos depósitos endógenos de un número determinado de sustratos esenciales, siendo esto debido en muchos casos a la inmadurez de numerosas vías metabólicas y funciones fisiológicas. (Mataix J 2008)

La leche materna es un alimento imprescindible que le puede aportar al neonato defensa adicional frente al desarrollo de diversas patologías. Entre estas enfermedades se encuentran las agrupadas bajo el término de “enfermedades neonatales por radicales oxigénicos”, presentes fundamentalmente en los recién nacidos pretérmino; que se presentan debido al fuerte estrés oxidativo al que se ve sometido el recién nacido al momento del nacimiento. (Romero-Alvira and González Martínez 1992)

Debido al paso de un ambiente intrauterino, con una presión de oxígeno baja a un ambiente extrauterino, con una presión de oxígeno casi cinco veces superior, así como a diversos procesos implicados en la propia finalización de la gestación y el propio trabajo de parto, el recién nacido se enfrenta a una elevada concentración de radicales libres. Esta incrementada producción de radicales libres debe de ser controlada por el sistema de defensa antioxidante del neonato, cuya maduración corre paralela al desarrollo de la gestación, siendo esta la causa de que los recién nacidos prematuros muestren mayor agresión oxidativa, ya que presentan un sistema de defensa antioxidante más inmaduro. (Ochoa et al. 2003)

Frente al citado daño oxidativo, la madre ayuda en un principio al feto a protegerse de la agresión que sufrirá en el momento del parto, mediante un traspaso de sustancias

antioxidantes tales como ácido ascórbico,  $\alpha$ -tocoferol, beta-carotenos y coenzima Q a través de la placenta y posteriormente al recién nacido mediante el aporte de sustancias antioxidantes a través de la leche materna. (Friel et al. 2002)

La leche materna parece adaptar su composición al grado de estrés oxidativo existente en el recién nacido, mostrando unos mayores niveles de vitaminas antioxidantes A, E y C en la leche secretada horas después del parto, es decir el calostro, lo cual coincide con los mayores niveles de radicales libres en el recién nacido. Posteriormente se van reduciendo estas concentraciones a lo largo de las diversas etapas de la lactación (leche de transición y leche madura), lo cual vuelve a coincidir con el descenso en los radicales libres observado en los neonatos, al menos en lo que se refiere a los recién nacidos a término. Incluso con respecto al recién nacido prematuro, la leche materna varía su composición. Por lo tanto, la leche proveniente de madres que han dado a luz prematuramente es una leche, en general, más rica en proteínas y energía y al parecer con un mayor contenido en  $\alpha$ -tocoferol, enzimas antioxidantes, lo cual en parte podría ser debido a un intento por incrementar las defensas en el recién nacido prematuro. (Ochoa et al. 2003)

La composición y volumen de la leche varía en cada madre, las demandas del bebé, la hora del día, el estado nutricional de la madre, si la leche es extraída o succionada por el bebé y otros factores. (Emmett P 1997)

La leche humana tiene una gran variedad de componentes antioxidantes tanto exógenos como endógenos, que aportan una importante protección al lactante. El estrés oxidativo en bebés puede favorecer la aparición de un exceso de radicales libres. De aquí que es muy importante alimentar al neonato con leche humana, incluyendo a bebés prematuros. (Emmett and Rogers 1997)

## **II. REVISIÓN DE LITERATURA**

### 2.1 Antecedentes

La leche humana es un líquido de gran complejidad biológica, constituido por nutrimentos, sustancias inmunológicas, hormonas, enzimas, factores de crecimiento, células inmunoprotectoras, etc., que la hacen nutricional e inmunológicamente apta para que el niño sea alimentado con ella en forma exclusiva durante los primeros seis meses de vida. (García-López 2011)

Al amamantar a sus hijos, las madres les proporcionan los mejores elementos para desarrollar al máximo todo su potencial, mientras los protegen de un amplio espectro de enfermedades a corto, mediano y largo plazo. La lactancia materna también contiene protección para la salud de la madre. Así la lactancia materna beneficia al recién nacido, a su madre, a su familia y a la sociedad en su conjunto, ya que promueve el desarrollo de seres humanos más sanos en muchos aspectos y evita gastos derivados de las enfermedades que previene. Además, la lactancia materna contribuye a la conservación del medio ambiente, al generar menos residuos y consumir menos energía no renovable (botes, biberones, soluciones para esterilizar, energía necesaria para la producción de leches artificiales y sus envases, agua y jabones de limpieza, etc) (Hernández-Aguilar, Muñoz-Guillén, and Lasarte-Velillas 2004)

### 2.2 Composición de la leche materna

La leche materna es un fluido altamente dinámico, su composición está influida tanto por factores intrínsecos a la propia glándula mamaria como por factores externos y necesidades específicas del lactante. La composición varía a lo largo del tiempo, de manera que la leche secretada en las primeras horas después del parto y la producida después de un mes difiere en su composición general. La leche materna es un alimento extremadamente complejo, no tiene una composición estática y sus constituyentes cambian durante el periodo de lactancia. Al inicio de la toma, la leche es más acuosa, calma la sed del niño y es rica en proteínas, minerales, vitaminas hidrosolubles y lactosa. Al finalizar es de color más blanco, con mayor concentración de grasa y vitaminas liposolubles. (Macías, Rodríguez, and Ronayne 2006)

La leche se clasifica en tres tipos:

**Calostro:** leche inicial que es secretada desde las primeras horas hasta el quinto día de post-parto, caracterizada por tener una mayor concentración de proteínas y minerales y baja concentración en grasa y lactosa, lo cual refleja las necesidades del recién nacido en la primera semana de vida. Provee al niño de 67 kcal/dl, es rico en vitaminas A, B12 y K, inmunoglobulinas, lactoferrina y leucocitos, y facilita el crecimiento de los lactobacilos bifidus en el tracto intestinal y la eliminación del meconio. Es un fluido amarillo de alta densidad y pequeño volumen que llena las células alveolares durante el último semestre de gestación. (Lawrence 1994)

**Transición:** es la leche que se secreta a partir del sexto día hasta el decimocuarto día. Durante este lapso descienden los niveles de inmunoglobulinas y proteínas; y se incrementa la concentración de lactosa, los niveles de grasa y el contenido de energía hasta alcanzar las características de leche madura.

**Madura:** se secreta posteriormente a la leche de transición hasta que finaliza la lactancia, caracterizada por ser más rica en grasas. Es una mezcla homogénea que consiste de tres fracciones: emulsión (gotas de grasa), suspensión (micelas de caseína) y solución (componentes solubles en agua). En la literatura se han descrito diferentes contenidos de energía presentes en leche madura, que van de 65.7 kcal/dl, 71 kcal/dl a 75 kcal/dl. (Kunz et al. 1999)

En general existen variaciones en los componentes nutricionales de la leche humana, lo cual depende de la etapa de lactancia, la hora del día, periodo de alimentación, el estado de nutrición y edad de la madre, edad gestacional del niño, así como aspectos individuales de cada madre lactante. (Rodriguez-Palmero et al. 1999)

### **2.2.1 Macronutrientes**

Grasa: es la principal fuente de energía en la leche humana y parece ser el macronutriente más variable. El contenido total de grasa de la leche materna es bajo en los primeros meses de lactancia, y depende de la medida en que se vació el pecho durante la última tetada. Mientras la lactancia se va dando, el contenido de grasa aumenta y puede aumentar hasta cuatro veces.

Tabla 1. Composición nutrimental promedio de leche materna en las tres etapas.

Nutrientes/100ml	Calostro	Transición	Madura
Agua	88.2g	87.4 g	87.1 g
Energía	56 kcal	67 kcal	69 kcal
Proteínas	2 g	1.5 g	1.3 g
Lípidos	2.6 g	3.7 g	4.1 g
Hidratos de carbono	6.6 g	6.9 g	7.2 g
Nitrógeno total	0.31 g	0.23 g	0.20 g
Ácidos grasos saturados	1.1 g	1.5 g	1.8 g
Ácidos grasos monoinsaturados	0.3 g	1.5 g	1.6 g
Ácidos grasos poliinsaturados	31 mg	0.5 g	0.5 g
Colesterol	290 µg	24 mg	16 mg
Vitamina A	1.30 mg	122 µg	82 µg
Vitamina E	0.01 mg	0.48 ng	0.34 mg
Tiamina	0.03 mg	0.01 mg	0.02 mg
Riboflavina	0.03 mg	0.03 mg	0.03 mg
Niacina	0.1 mg	0.1 mg	0.2 mg
Folato	2 µg	3 µg	5 µg
Pantotenato	0.12 mg	0.20 mg	0.25 mg
Biotina	0.2 µg	0.2 µg	0.7 µg
Vitamina C	7 mg	6 mg	4 mg

(Emmett P 1997)

La grasa es el componente más variable de la leche materna, correspondiendo a 3 o 4g/dl, y representa la principal fuente de energía para el recién nacido, provee de 35 a 50% de sus necesidades diarias. El contenido de grasa también varía según la hora del día en el que se de lactancia y algunos factores como el tipo de alimentación que consuma la madre.

Casi todos los lípidos en leche humana están presentes en forma de gotitas, las cuales permiten la estabilización de la emulsión e incrementa la biodisponibilidad de componentes liposolubles. Los componentes lipídicos incluyen triglicéridos, fosfolípidos y colesterol, así como ácidos grasos libres, y se derivan de grasa circulante originaria de la dieta y reservas de la madre, o son sintetizadas de la glucosa en el pecho.

El contenido de grasa en la leche humana incrementa con el aumento de ingesta de grasa en la dieta, con un aparente efecto con la ingesta de entre 37 y 60 g de grasa al día.

En una dieta restringida en calorías baja en grasa, una mayor proporción de grasa corporal almacenada será usada para la síntesis de grasa en la leche, y de esta manera la grasa y energía total de la dieta influenciarán indirectamente en la composición de ácidos grasos de la leche. (Emmett P 1997)

### Proteínas

La concentración de proteína es mucho mayor en calostro que en leche madura, pero la mayor parte de esta es inmunoglobulina secretora A (Ig A) la cual probablemente no es absorbida por el intestino y nutricionalmente no está disponible pero tiene una función en la protección del intestino contra las infecciones.

La leche humana contiene algunas proteínas que están sintetizadas por la glándula mamaria como lactoferrina, alfa-lactoalbumina y caseína, estas son llamadas proteínas específicas de la leche. Otras son derivadas de la sangre de la madre, como la albumina sérica. Las concentraciones de las que se secretan en la glándula mamaria tienden a disminuir rápidamente durante los primeros días de lactancia, mientras que las derivadas de la sangre de la madre, se mantienen constantes.

Aproximadamente dos tercios de la proteína de leche humana es proteína de suero. Los principales proteínas que constituyen el suero de la leche humana son la alfa-lactoalbumina, lactoferrina y la IgA secretora.

El total del contenido de proteína en leche humana es el más bajo entre todos los mamíferos debido al crecimiento relativamente lento del niño. La cantidad real va de 0.8 a 0.9 g/dl, incluyendo una fracción alta de nitrógeno no proteico correspondiente a 20 o 25%.

La leche humana también contiene mucho más nitrógeno no proteico que la leche de vaca. Esto incluye urea, ácido úrico, creatinina, aminoácidos libres como la taurina y ácido glutámico, amino azúcares y alcoholes, hormonas peptídicas, ácidos nucleicos y nucleótidos. La significancia biológica de estos compuestos de nitrógeno no proteico es incierta, pero algunos de ellos se cree que son importantes para el desarrollo del niño. Estos compuestos son derivados principalmente de la sangre de la madre y se presentan en cantidades constantes durante la lactación.

La evidencia de cualquier efecto del estado de nutrición materna en la concentración de proteína en la leche es contradictoria. Es confusa debido a la variedad de métodos utilizados para medir la proteína en la leche, los cuales pueden o no incluir los componentes de nitrógeno no proteico. (Emmett P 1997)

### Hidratos de carbono

La lactosa es el principal carbohidrato en leche humana, con una concentración de 7g/dl la cual es metabolizada a galactosa, la fuente primaria de la materia blanca del cerebro en crecimiento. La lactosa no es un nutrimento esencial en la dieta, pero puede tener algunas funciones especiales en la leche humana incluyendo ayudar a la absorción del calcio, desarrollando la acidez del intestino y determinando la naturaleza de la flora bacterial intestinal.

La concentración de lactosa en leche humana parece ser bastante sensible a los cambios en la dieta y estado nutricional de la madre.

Los oligosacáridos están presentes en una cantidad razonable en el calostro y en menor medida en la leche madura. Más del 1.2% del total de hidratos de carbono en calostro son

monosacáridos principalmente glucosa y fructosa, estos disminuyen en la leche madura. Los oligosacáridos junto con la lactosa facilitan el crecimiento de la flora bifidus en el intestino y ayudan a proteger al niño alimentado con leche materna de infecciones gastrointestinales. (Emmett and Rogers 1997)

## **2.2.2 Micronutrientos**

### Minerales

La concentración de minerales está adaptada a los requerimientos nutricionales y capacidad metabólica del niño. En comparación con los sucedáneos, la leche materna presenta alta biodisponibilidad de micronutrientos. Los micronutrientos se encuentran presentes principalmente ligados a la membrana proteica del glóbulo de grasa, a diferencia de la leche bovina, donde la caseína presenta la mayor proporción de minerales. El contenido total de minerales en leche humana es generalmente constante e incluye minerales como el sodio, potasio, cloro, calcio, magnesio y fósforo, y los elementos traza hierro, fluor, zinc, cobre, manganeso, iodo y selenio.

### Vitaminas

En la naturaleza hay una gran variedad de compuestos esenciales para nuestro subsistir, entre ellos figuran las vitaminas. La forma para adquirirlas, es básicamente a través de fuentes exógenas.

La palabra “vitamina” proviene del latín *vita* (vida) más el griego *ammoniakuós* (producto libio, amoníaco), con el sufijo latino *ina* (sustancia). En general, las vitaminas se caracterizan por ser moléculas grandes, cuya estructura química se basa en combinaciones de grupos alifáticos lineales o cíclicos y en algunos casos grupos aromáticos con algún grado de sustitución; los átomos presentes en estas estructuras son carbono (C), oxígeno (O), e hidrógeno (H).

Las vitaminas se clasifican en dos grupos dependiendo de su solubilidad: hidrosolubles y liposolubles; la solubilidad, determina su estabilidad, presencia en alimentos, la distribución en líquidos corporales y su capacidad de almacenamiento en los tejidos.

En la leche madura la niacina y la vitamina C son las vitaminas hidrosolubles más abundantes. Todas las vitaminas hidrosolubles se encuentran en la leche humana, y la concentración de vitamina C es 10 veces mayor en la leche que en el plasma materno.

El contenido de las vitaminas liposolubles en leche humana presenta mayores concentraciones de  $\beta$ -caroteno y vitamina E. La leche de una madre bien nutrida presenta cantidades suficientes de vitaminas para el normal crecimiento del bebé. (López-García 2011)

Las vitaminas A, E y C juegan un rol importante en la actividad antioxidante e inmunomodulación. (18,19). El ácido ascórbico y tocoferoles son sensibles a la luz, oxígeno y temperatura.

Más adelante, se mencionan algunas vitaminas incluyendo la vitamina C que fue nuestro objeto de estudio, junto con ciertos aspectos de sus propiedades y origen. (Tabla 2)

### **2.3 Vitamina C**

La vitamina C se refiere a todos los compuestos que exhiben una actividad biológica equivalente al L-ácido ascórbico (AA), incluyendo sus productos de oxidación (ácido dehidroascorbico DHA), isómeros (ácido isoascórbico IA), esterres (palmitato ascocorbilo) y sus formas enzimáticas (6-deoxy-L-AA- fosfato-L-AA) (Spínola, E, and Castiljo 2014).

El ácido ascórbico (AA) es la principal forma biológicamente activa, pero el ácido dehidroascórbico (DHA) también presenta actividad biológica al convertirse en ácido ascórbico en el cuerpo humano. Es importante medir ambos AA y DHA al reportar los niveles totales de vitamina C. La vitamina C en leche humana juega varios roles bioquímicos ligados al funcionamiento del sistema inmune. Ayuda a mantener la barrera natural contra infecciones, aumenta la producción de anticuerpos y la actividad antimicrobial. Por lo tanto bebés y niños en desarrollo necesitan un óptimo aporte de Ácido Áscórbico. (Romeu-Nadal et al. 2006)

La vitamina C corresponde al grupo de las vitaminas hidrosolubles. La gran mayoría de ellas no se almacena en el cuerpo por un largo período de tiempo y se elimina en pequeñas cantidades a través de la orina. Por este motivo, es importante su administración diaria, ya que es más fácil que se agoten sus reservas que las de otras vitaminas.

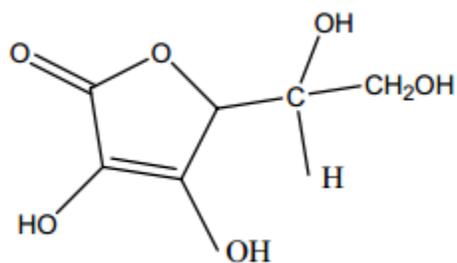
Tabla 2 Vitaminas

<b>Vitamina</b>	<b>Retinol C<sub>20</sub> H<sub>30</sub> O , (Vitamina A)</b>
Propiedades fisicoquímicas	CAS: 68-26-8; peso molecular: 286.45 g/mol; Color: amarillo; punto de ebullición: 122.5°C; punto de fusión: 63 °C; soluble en: metanol acetona y cloroformo. Protege al ADN, detiene el deterioro de tejidos.
Fuentes	Alimentos de origen animal como la leche, la mantequilla, el queso, la yema de huevo, el hígado, el aceite de hígado de pescado, zanahoria, tomates, espinacas, melón, melocotón, mango etc.
<b>Vitamina</b>	<b>(+)-α-Tocoferol, C<sub>29</sub> H<sub>50</sub> O<sub>2</sub> (Vitamina E)</b>
Propiedades	CAS: 59-02-9; peso molecular: 430.71 g/mol; Color: amarillo claro; punto de ebullición: no reportado; punto de fusión: 3°C; soluble: éter etílico; acetona. Mantiene la integridad de la membrana celular, protege la destrucción de la vitamina A, retarda el envejecimiento celular.
Fuentes	Se encuentra en muchos alimentos, principalmente de origen vegetal; entre ellos, en el brócoli, las espinacas, el germen de trigo, la levadura de cerveza, aguacate, camote, espárragos, tomate, aceites, cereales, lenteja, yema de huevo, mantequilla, moras, etc.
<b>Vitamina</b>	<b>Ácido Ascórbico</b>
Propiedades fisicoquímicas	Es inhibidor de la oxidación de lípidos, regenera la vitamina E, ofrece protección contra el cáncer.
Fuentes	Acelgas, tomates, perejil, pimiento verde, coliflor, coles de Bruselas, nabos, grosellas, cítricos, melón, kiwi, fresas espinaas, zanahoria, melocotón, mango, etc.

La vitamina C es una sustancia de color blanco, estable en su forma seca, de fácil oxidación la cual se acelera al contacto con el calor.

Algunas posibles influencias en la estabilidad de las propiedades de la leche en su forma líquida son la temperatura y almacenamiento. Las recomendaciones para el almacenamiento de leche materna en unidades neonatales y en casa son variables: para el almacenamiento en refrigeración a 4°C debe ser de 24-48 horas a 3-5 días, incluso hasta 8 días. Para congelación a -18° C debe ser de 3 a 12 meses, o congelación a -70°C puede ser a periodos más largos. Estos periodos son utilizados principalmente para minimizar el crecimiento bacteriano en lugar de preservar las propiedades nutricionales. Entonces, el almacenamiento puede resultar en la pérdida de nutrientes sensibles a oxidación, como las vitaminas C y E, debido a que estas son sensibles a la luz, oxígeno y temperatura. (Romeu-Nadal, Castellote, and López-Sabater 2008)

Su base principal es el ácido ascórbico; definiendo así, que la vitamina C es un derivado de la hexosa, sintetizada a partir de la glucosa y la galactosa en la figura 1 se muestra la estructura química de la vitamina C. (Romeu-Nadal, Castellote, and López-Sabater 2008)



**Figura 1. Estructura del ácido ascórbico**

Como agente reductor, el AA es rápidamente oxidado a DHA en la sangre y en los tejidos periféricos. El DHA es inestable en solución acuosa, a pH y temperatura fisiológicos, con una semivida de aproximadamente 6-20 minutos, dependiendo de la concentración. La vitamina C total se cuantifica tanto el AA como el DHA. (Romeu-Nadal, Castellote, and López-Sabater 2008)

Algunas excelentes fuentes de vitamina C son naranjas, pimientos verdes, sandía, papaya, pomelo, fresas, kiwi, mango, tomates, coles de Bruselas, coliflor, col y zumos de la fruta cítrica o zumos fortificados con vitamina C. Las espinacas, las patatas, la calabaza de invierno, las frambuesas y la piña son también fuentes ricas en vitamina C. La vitamina C es sensible a la luz, al aire y al calor, así es mejor comer las frutas y verduras crudas, o poco cocidas con el objetivo de retener su máximo contenido en vitamina C. (Romeu-Nadal, Castellote, and López-Sabater 2008)

En México, en cuanto a las mujeres en edad reproductiva (12 a 29 años), la prevalencia de deficiencia es muy alta tanto en embarazadas como en no embarazadas, cerca de la mitad tiene algún grado de deficiencia, esta prevalencia tiende a ser mayor en las embarazadas de las localidades rurales que en las urbanas, aunque en las no embarazadas no se encuentra diferencia. La región norte fue en donde se encontró la prevalencia más alta de esta deficiencia. (Bourges, Casanueva, and Rosado 2008)

El contenido de vitamina C en la leche humana influye en los niveles de ésta en los lactantes y depende de muchos factores, pero fundamentalmente del estadio de la lactancia y del estado nutricional de la madre. Los niveles de vitamina C son más elevados en el calostro que en la leche madura. (Tabla 4)

Se sabe por diferentes estudios que la concentración de vitamina C en la leche materna está relacionada con el estado vitamínico de la madre. Cuanta más cantidad toma la madre, mayor es la concentración en la leche materna, pero, un suplemento de vitamina C con una buena alimentación no influye en la concentración de la leche materna, ya que parece ser que existe un nivel de saturación (Romeu-Nadal, Castellote, and López-Sabater 2008).

La ingesta diaria recomendada de vitamina C para las madres durante la lactancia son de 100 mg/día, siendo la ingesta óptima de 120 a 170 mg/día.

La vitamina C participa directamente en el sistema inmunitario, pues se ha comprobado que los leucocitos acumulan en su interior cantidades importantes de la misma, con el fin de evitar la autooxidación. También colabora en la proliferación de linfocitos como respuesta a la mitogénesis, lo que se relaciona con la producción de leucotrienos y con la actividad antihistamínica. (Macias and Schweigert 2001)

**Tabla 3. Ingesta diaria recomendada de vitamina C, según el grupo de edad.**

<b>Vitamina C mg/día</b>		
<b>Infantes</b>		
0-6 meses	40	
7-12 meses	50	
<b>Niños</b>		
1-3 años	15	
4-8 años	25	
	<b>Varones</b>	<b>Mujeres</b>
9-13 años	45	45
14-18 años	75	65
19-30 años	90	75
31-50 años	90	75
51-70 años	90	75
>70 años	90	75
	<b>Embarazadas</b>	<b>Lactancia</b>
≤18 años	80	115
19-30 años	85	120
31-50 años	85	120

(Board 1998)

En la leche materna madura, la vitamina C es secretada en un 91% como ácido ascórbico (AA), y el resto como ácido dehidroascórbico (DHA). Este porcentaje puede variar ampliamente de una madre a otra.

Aunque la degradación de la vitamina C puede ser por vía anaeróbica o aeróbica, la degradación anaeróbica del AA es relativamente insignificante en lo referente a la pérdida de dicha vitaminas en los alimentos (Spínola, E, and Castiljo 2014).

La vitamina C atraviesa la placenta con facilidad ya que la concentración en la sangre del cordón umbilical es mayor que en la sangre materna. La leche materna contiene entre 40 y 50 mg/l, en comparación con la leche de vaca que contiene entre 17 y 21 mg/l.

Las necesidades de vitamina C de los lactantes amamantados oscilan entre los 50 y 80 mg/día (Jensen, 1999), cantidades algo superiores a las que aporta la leche. Según estas cifras, la leche materna sería insuficiente para asegurar los niveles idóneos; sin embargo, se supone que, tal como ocurre con algunos otros compuestos, deben existir algunos mecanismos que regulan los niveles de vitamina C en la leche, pues los lactantes sanos alimentados con leche humana y sus propias madres no tienen indicado recibir ningún complemento en los primeros 6 meses de vida.

La absorción de vitamina C se produce en el duodeno y en el yeyuno proximal, a través de un transporte activo dependiente de iones y sodio. El transporte del ácido ascórbico se hace a través del plasma, aunque no se han encontrado proteínas específicas que lo vehiculen. El metabolismo en el interior de la célula tiene lugar en forma de ácido dehidroascórbico y la entrada puede ser pasiva, pues utiliza el mismo sistema de transporte que la glucosa. En el interior de los tejidos, la concentración de ácido ascórbico es más alta que en el plasma. Algunos tejidos tienen más concentración de vitamina C y un mayor metabolismo, como la hipófisis, el hígado, las glándulas suprarrenales, el páncreas, el encéfalo y los ojos, en los que se sugiere un papel protector antioxidante. En el riñón, la vitamina C tiene una reabsorción tubular a través de mecanismos de transporte dependientes del sodio; cuando la concentración de vitamina excede la capacidad de reabsorción, aparece en la orina el ácido absorbido. (Macias and Schweigert 2001)

**Tabla 4. Contenido de vitaminas en calostro y leche madura.**

Vitamina	Calostro/100ml	Leche madura/100ml
Vitamina A (ug)	89	47
B-caroteno (ug)	112	23
Vitamina D (ug)		0.004
Vitamina E (ug)	1280	315
Vitamina K (ug)	0.23	0.21
Tiamina (ug)	15	16
Vitamina B6 (ug)	12	28
Vitamina B12 (ug)	200	26
Ácido ascórbico (ug)	4.4	4.0

(Lawrence 2007)

El AA actúa como antioxidante inactivando especies altamente reactivas, reacciona directamente con radicales libres en medio acuoso protegiendo las estructuras y funciones celulares. Actúa de forma sinérgica con otros antioxidantes, como el  $\alpha$ -tocoferol, mediante la donación de un electrón al radical tocoferil, regenerando el potencial antioxidante de la vitamina E. Se ha demostrado que el AA, que se concentra especialmente en la células neuronales, las protege del estrés oxidativo, actuando tanto directamente como indirectamente por su acción combinada con el  $\alpha$ -tocoferol (Romeu-Nadal, Castellote, and López-Sabater 2008).

## **2.4 Compuestos fenólicos**

Los compuestos fenólicos se encuentran ampliamente distribuidos en las frutas y verduras. Originan una de las clases más importantes de metabolitos secundarios en plantas, en su mayoría derivados de la fenilalanina y en menor cantidad de la tirosina (López 2008). Poseen,

al menos, un anillo aromático, con uno o más grupos hidroxilo unidos en este anillo (Pineiro-Mendez 2005). Estos compuestos constituyen un amplio grupo de sustancias, presentes en las plantas con diferentes estructuras químicas y actividades metabólicas. Existen más de 8000 compuestos fenólicos identificados (Shahidi and Naczk 2004).

El comportamiento antioxidante de los compuestos fenólicos parece estar relacionado con su capacidad para quelar metales, ya sea manteniendo o incrementando su actividad catalítica o reduciéndolos (Decker 1997).

Los tres grupos más importantes en los que se dividen los compuestos fenólicos son: flavonoides, ácidos fenólicos y polifenoles.

Los compuesto fenólicos varían desde moléculas simples como los ácidos fenólicos hasta compuestos altamente polimerizados como los taninos. Se presentan en las plantas en forma conjugada con uno o más residuos de azúcar unidos a los grupos hidroxilos, aunque en algunos casos se pueden producir uniones directas entre una molécula de azúcar y un carbono aromático. Por ello la forma más común de encontrarlos en la naturaleza es en forma de glicósidos, siendo solubles en agua y solventes orgánicos. Los azúcares asociados a los polifenoles pueden ser monosacáridos, disacáridos o incluso oligosacáridos. Los compuestos a los que se encuentran unidos con más frecuencia son: glucosa, galactosa, arabinosa, ramnosa, xilosa, y ácidos glucurónico y galacturónico. También pueden encontrarse unidos a ácidos carboxílicos, ácidos orgánicos, aminas, lípidos y a otros compuestos fenólicos. (Martínez-Valverde, Periago, and Ros 2000) En la tabla 5 se muestra la clasificación de los compuestos fenólicos con respecto a su estructura según la clasificación realizada por Harborne en 1998. (Pineiro-Mendez 2005)

### **Fuente de compuestos fenólicos.**

Los compuestos fenólicos (CF) son metabolitos secundarios que se encuentran en las plantas y constituyen una de los más abundantes grupos de metabolitos naturales y constituyen una parte importante de la dieta en los humanos. Los compuesto fenólicos se encuentran en frutas comunes como manzanas, arándanos, uvas, frambuesas, y fresas y sus bebidas como el vino tinto, jugo de manzana y naranja; en verduras como la col y la cebolla, granos alimenticios

como sorgo, el mijo, la cebada, los guisantes, presentes en algunos cereales, té, café y nueces (26-29)

### **Actividad antioxidante de los compuestos fenólicos**

Un antioxidante es un compuesto químico que hallándose presente a bajas concentraciones con respecto a las de un sustrato oxidable, retarda o previene la oxidación de dicho sustrato. Igualmente se definen como compuestos que protegen el sistema celular de efectos potencialmente perjudiciales en los procesos que puedan causar oxidación excesiva (Posada-Jaramillo, Pineda-Salinas, and Agudelo-Ochoa 2003).

En el organismo existen sistemas biológicamente activos conocidos como antioxidantes que actúan para proteger y contribuir al equilibrio fisiológico garantizando la vida. Los estudios epidemiológicos experimentales y clínicos han demostrado que los antioxidantes proveen una eficacia biológica en la prevención y en la disminución de los efectos negativos de las enfermedades producidas por el estrés oxidativo (Posada-Jaramillo, Pineda-Salinas, and Agudelo-Ochoa 2003).

Los antioxidantes deben estar presentes en el organismo en una concentración suficiente que permita prevenir la acumulación de elementos prooxidantes, estado conocido como estrés oxidativo. El antioxidante al reaccionar con el radical libre le cede un electrón, oxidándose a su vez y transformándose en un radical libre débil no tóxico, que en algunos casos como el de la vitamina E, puede regenerarse a su forma primitiva por la acción de otros antioxidantes (Posada-Jaramillo, Pineda-Salinas, and Agudelo-Ochoa 2003).

La actividad antioxidante de muchas sustancias depende del metabolismo celular y son conocidas como antioxidantes endógenos, entre los cuales están la superóxido dismutasa, las catalasas y la glutatión peroxidasa. También existen factores nutricionales conocidos como antioxidantes exógenos, siendo los más estudiados el alfa tocoferol, el beta-caroteno, el ácido ascórbico y los polifenoles.

La actividad antioxidante de los compuestos fenólicos es debida a sus propiedades redox, las cuales juegan un papel importante en la absorción y neutralización de radicales libres y en la descomposición de peróxidos.

Para comprender mejor la actividad fisiológica de los fenólicos, se debe tener en cuenta que la capacidad antioxidante varía en función del grupo de compuestos estudiados y de la solubilidad en fase acuosa o lipídica.

### **Funciones fisiológicas.**

El efecto atribuido al consumo de los compuestos fenólicos es amplio, existe un sinnúmero de investigaciones realizadas sobre las actividades fisiológicas de los componentes funcionales en plantas como en animales.

Los principales beneficios del consumo de CF se enumeran a continuación;

1. Estudios epidemiológicos han indicado que las dietas ricas en frutas y verduras, ricas en compuestos fenólicos se asocia con una menor incidencia de oxidación lo que previene el desarrollo de enfermedades tales como el cáncer, enfermedades cardiovasculares y diabetes (Vattem, Ghaedian, and Shetty 2005). La capacidad antioxidante de los compuestos fenólicos se relaciona con la capacidad de reducir los radicales libres (Vesna 2000).
2. Varios equipos de investigación han descrito efectos vasodilatadores, anti-angiogénicos, antiinflamatorios, bactericidas, estimuladores de la respuesta inmune, antialérgicos, antivirales, efectos estrogénicos e inhibidores de la fosfolipasa A2, de la ciclooxigenasa, lipooxigenasa y xantina oxidasa (Martínez-Valverde, Periago, and Ros 2000).
3. Un número de estudios epidemiológicos han demostrado que en el consumo de una dieta rica en CF pueden influir en la disminución de enfermedades neurodegenerativas. Orgogozo et al, han demostrado una correlación positiva entre un moderado consumo de vino tinto y una disminución en la incidencia de demencia (Basil et al. 2012). Dichos efectos se han atribuido principalmente a su capacidad antioxidante

Tabla 5. Clasificación de los compuestos fenólicos.

<b>Estructura</b>	<b>Clase fenólica</b>
C6	Fenoles
C6-C1	Ácidos hidroxibenzoicos
C6-C2	Acetofenonas y ácidos fenilacéticos
C6-C3	Ácidos cinámicos, cumarinas, isocumarinas y cromonas.
C6-C4	Naftoquinonas
C6-C1-C6	Benzofenonas, xantonas
C6-C2-C6	Estilbenos, antraquinonas
C6-C3-C6	Flavonoides: flavanonas, flavonoles. Antocianidinas, chalconas, flavonoles. Auronas, flavonas e isoflavonas
(C6-C3)2	Lignanós
(C6-C3-C6)2	Bioflavonoides, biflavanos
(C6-C3) <i>n</i>	Ligninas
(C6-C3-C6) <i>n</i>	Proantocianidinas

- Se ha demostrado una influencia de los CF que presentan sobre el metabolismo de hidratos de carbono. Los posibles mecanismos incluyen la inhibición de la digestión y absorción de hidratos de carbono en el intestino, la estimulación de la secreción de insulina de las células  $\beta$  del páncreas, modulación de la liberación de glucosa desde el hígado, la activación de los receptores de insulina y captación de glucosa en los tejidos sensibles a la insulina, y la modulación de la señalización intracelular y la expresión génica (Hanhineva et al. 2010)

5. Numerosos estudios han avalado las propiedades biológicas de los compuestos fenólicos como acciones vasodilatadoras y vasoprotectoras, así como sus acciones antiotrombóticas, antilipérmicas, antiateroscleróticas, antiinflamatorias y antiapoptóticas. (Schroeter et al. 2006) (Perez-Vizcaino et al. 2009)

### **Absorción y Metabolismo de compuestos fenólicos.**

Los compuestos fenólicos dietéticos pueden ser absorbidos desde el intestino, deben ser liberados por medio de la masticación, la acción de los jugos digestivos en el tracto gastrointestinal, y finalmente los microorganismos del colon. Se puede prever que esta liberación de los tejidos de la planta, depende del tipo de alimentos, sus condiciones de procesamiento, y la presencia de otros componentes de la dieta. La absorción de los CF liberados del alimento dependerá de sus propiedades fisicoquímicas tales como el tamaño molecular y configuración, solubilidad, y pKa. La absorción y metabolismo de compuestos fenólicos digeribles está dado en intestino delgado, colón, hígado y riñones. Tanto el intestino como el hígado y riñón contienen enzimas capaces de biotransformar compuestos fenólicos y sus metabolitos. La mayoría de los compuestos fenólicos, excepto catequinas, usualmente están presentes en la dieta como glicósidos. (Hollman 2004).

La mayoría de los glucósidos resisten probablemente la hidrólisis ácida del estómago y llegan intactos al intestino. Estas sustancias deben hidrolizarse por enzimas intestinales como – glucosidasa y la lactasa-florizina hidrolasa, o deben ser degradadas por la microflora del colon antes de poder asimilarse. Las agliconas, los compuestos fenólicos simples libres, los flavonoides (quercetina y genisteína) y los ácidos fenólicos (ácidos cinámicos y sus derivados, ácido p-cumárico, ferúlico, cafeico, etc) pueden ser absorbidos a través de la mucosa del intestino delgado. La fermentación bacteriana de hidratos de carbono también puede liberar compuestos fenólicos unidos a la fibra, los cuales podrían ser metabolizados al igual que los polifenoles extraíbles. Las agliconas se hidrolizan por apertura del anillo heterocíclico en diferentes grupos, dependiendo de su estructura química y además se pueden liberar de diferentes ácidos que se metabolizan hasta general ácido benzoico. En el colon, las agliconas son absorbidas a través del epitelio intestinal y metiladas y/o o conjugadas con ácido glucurónico o sulfato en el hígado (Martínez-Valverde, Periago, and Ros 2000) (Hollman 2004).

**Figura 3** .Las agliconas y los compuestos fenólicos simples libres, los flavonoides (quercetina y genisteína) y los ácidos fenólicos pueden ser absorbidos a través de la mucosa del intestino delgado.

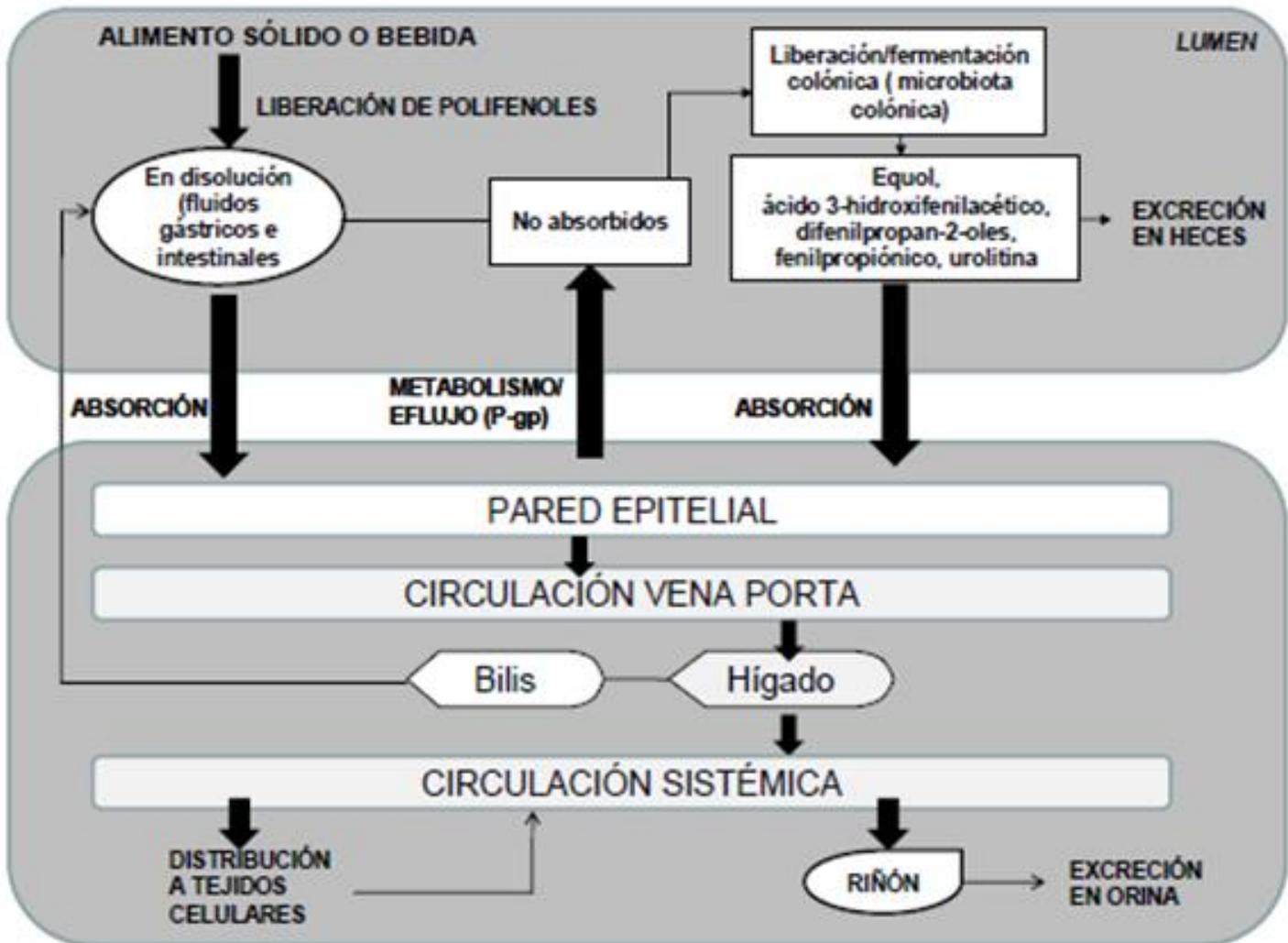
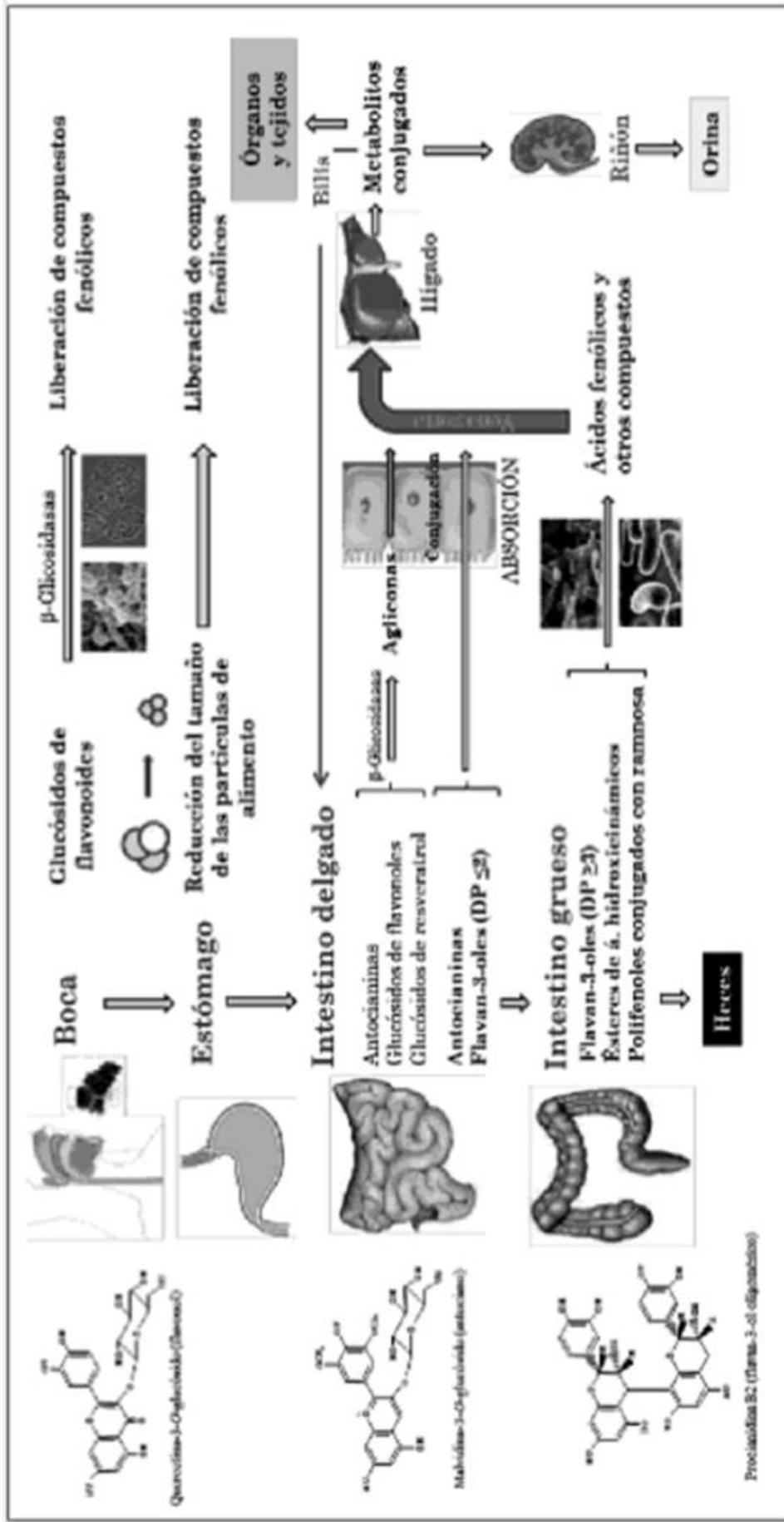


Figura 2. Esquema general del metabolismo de los polifenoles



Adaptado de Cueva, 2011.

## **2.5 Estrés oxidativo en neonatos y capacidad antioxidante en la leche materna**

Existe evidencia que demuestra que en el neonato existen procesos que se acompañan del aumento de estrés oxidativo y que el consumo de leche humana en esta etapa pueden contrarrestar de manera importante los efectos. Los estudios demuestran que el proceso de parto se acompaña de un aumento del estrés oxidativo y puede dar lugar a daño oxidativo del ADN en el recién nacido. (Tijerina-Saenz, Innis, and Kitts 2009) Según el grado de estrés oxidativo que presente el recién nacido la composición de la leche materna es adaptada, presentando mayores niveles de vitaminas antioxidantes (A, E y C) y algunas enzimas antioxidantes.

Los bebés pre término tienen reducida su capacidad antioxidante y están constantemente expuestos a estrés oxidativo causado por infecciones, ventilación mecánica, nutrición intravenosa y transfusiones sanguíneas. También tienen muchos desordenes comunes incluyendo enfermedades pulmonares crónicas, enterocolitis necrosante, retinopatía prematura y hemorragia intraventricular- periventricular, las cuales pueden deberse a un imbalance entre la capacidad antioxidante y estrés oxidativo. (Hanna 2004)

La maduración de las enzimas antioxidantes de los pulmones y del intestino del feto no se realiza hasta la última parte de embarazo. El recién nacido soporta tensiones de oxígeno aproximadamente cinco veces superiores a las que experimenta en su vida intrauterina, y en el caso del recién nacido prematuro son diez veces superiores a ella (Emmett and Rogers 1997). Es bastante frecuente que el prematuro esté expuesto a una mayor peroxidación debido a la oxigenoterapia, los neonatos tienen valores más elevados de AGPI en sus membranas que los adultos y estos son más susceptibles a la oxidación.

La susceptibilidad a la peroxidación de los eritrocitos de los recién nacidos también es mayor que la que presentan los eritrocitos de los adultos. Ya que algunos de los sistemas de defensa antioxidante no tienen la misma actividad en los eritrocitos de los adultos que en la de los recién nacidos. La actividad superóxidodismutasa no cambia excesivamente en los recién nacidos prematuros, a término y adultos, pero en cambio, la actividad glutatión peroxidasa y la actividad catalasa están reducidas en los recién nacidos comparada con los adultos. La actividad catalasa y glutatión peroxidasa en los prematuros aumenta con la edad gestacional

del feto. En el cordón umbilical la concentración de algunos compuestos antioxidantes como la vitamina C y bilirrubina es superior a la de los adultos.

La leche humana tiene una gran variedad de componentes antioxidantes tanto exógenos como endógenos, que aportan una importante protección al lactante. El estrés oxidativo en bebés puede favorecer la aparición de un exceso de radicales libres. De aquí que es muy importante alimentar al neonato con leche humana, incluyendo a bebés prematuros. (Emmett and Rogers 1997)

Existen evidencias de que una baja ingesta de antioxidantes en neonatos, podría relacionarse con síntomas alérgicos. Se ha observado que existe una relación inversa entre la cantidad de vitamina E ingerida y los niveles de IgE total en plasma. Una elevada ingesta de vitamina E durante el embarazo disminuye el riesgo de padecer enfermedades atópicas por parte del niño, como el asma y la dermatitis atópica, caracterizada por un elevado estrés oxidativo.

Por otro lado una elevada concentración de vitamina C en la leche materna se relaciona con un menor riesgo de enfermedades atópicas en el niño. (Macías, Rodríguez, and Ronayne 2006)

La capacidad antioxidante (CA) de la leche materna comprende la bioactividad de numerosos componentes y proporciona estabilidad a la aparición de reacciones de oxidación sobre todo lípidos.

La leche con una mayor CA refleja una mayor estabilidad de oxidación y una protección potencialmente mayor para el lactante de la exposición a agentes oxidantes. Como los radicales libres están relacionados a numerosos procesos degenerativos, se consideran que pueden causar trastornos inmediatos o a largo plazo como cáncer, aterosclerosis, enterocolitis necrotizante o diabetes entre otros. (Silvestre et al. 2008)

La lactancia materna juega un rol de modulación entre compuestos antioxidantes y oxidantes. El estrés oxidativo resulta de la interacción entre la fuerza de la oxidación inducida por especies de oxígeno reactivas (ROS) por un lado, y la eficiencia de las defensas antioxidantes por otro lado. El rol de éstas es protegernos de los efectos adversos de los ROS. Los niños alimentados con leche materna poseen una barrera antioxidante en la sangre más eficiente y

experimentan menor estrés oxidativo que los niños alimentados con fórmula. (Shoji et al. 2004; van Zoeren-Grobbe et al. 1994)

La leche humana contiene numerosos antioxidantes tales como: albumina, bilirrubina, cisteína, ácido úrico, coenzima Q10, lactoferrina y vitaminas A y E naturalmente presentes. También contiene enzimas antioxidantes como: catalasa, superóxido dismutasa y glutatión peroxidasa. Es posible que estos antioxidantes presentes en la leche materna ayuden a eliminar las especies de oxígeno reactivas (ROS) en los niños.

Se ha demostrado también la presencia de compuestos fenólicos totales tanto en leche materna como en fórmula láctea con una concentración que va entre los 329 a los 797 mg/kg. (Li et al. 2009)

En un estudio realizado el 2015 se evaluó el total de compuestos fenólicos en la leche de diferentes especies entre ellas la de oveja con una concentración de  $167.6 \pm 58.77$  mg GAE/L, leche de cabra con  $69.03 \pm 6.23$  mg GAE/L, leche humana con  $82.45 \pm 12.3$  mg GAE/L, leche de vaca con  $49.00 \pm 10.77$  mg GAE/L. En este estudio se encontró diferencia significativa cuando se comparó la leche materna con leche de oveja. Estas diferencias pueden deberse a la composición química de la leche para satisfacer las necesidades, a la alimentación o al metabolismo de compuestos fenólicos de cada especie. Este trabajo demostró que la leche contiene compuestos fenólicos y que es la única fuente de estos en los primeros meses de vida. (Velázquez-Vázquez et al. 2015)

El contenido de antioxidantes en leche materna depende de muchos factores como la dieta, la frecuencia en que se amamanta, el estado de salud, medicación y el lugar donde vive la madre. La concentración de antioxidantes se ha encontrado con variaciones de acuerdo con el periodo de lactancia (39,40).

La presencia de productos de oxidación de lípidos, proteínas y ácidos nucleicos refleja un incremento del estrés oxidativo. Los neonatos están expuestos al incremento de estrés oxidativo debido al aumento de la producción de ROS durante el parto y a un decremento de componentes antioxidantes como vitamina E y glutatión peroxidasa. (Friel et al. 2004).

## **2.6 Alimentación durante la lactancia materna.**

Existen datos recientes que sugieren la similitud en el contenido de la leche de madres que viven en diferentes regiones; a pesar de esto también hay evidencia de algunas diferencias regionales, particularmente en la concentración de ciertas proteínas, micronutrientes y vitaminas, debido en gran parte a la dieta de la madre y el medio ambiente (Prentice 1995).

El conocimiento sobre la ingesta de alimentos de la madre, permite predecir el riesgo de su deficiencia en el bebé y en algunos casos es posible la adecuación nutricional o suplementación de la madre. Los macronutrientes están poco afectados dentro de ciertos límites (Jelliffe and Jelliffe 1978).

Tanto la dieta previa como la actual, son los principales determinantes de la composición de ácidos grasos de los triglicéridos de la leche. Una dieta rica en ácidos grasos poliinsaturados determina mayor contenido de éstos en la leche. Una dieta con predominio de carbohidratos sobre lípidos determinará síntesis de novo de ácidos grasos en la glándula, con mayor concentración de ácidos grasos saturados de cadena media (Mena and Milad 1998).

Cuando la madre se encuentra en balance energético, los ácidos grasos derivados directamente de la dieta representan alrededor del 30% de los totales, mientras que cerca el 60% proviene de la síntesis tisular y de los depósitos adiposos. No hay evidencias de que el colesterol y los fosfolípidos de la leche humana puedan modificarse con la dieta materna.

La ingesta proteica materna no modifica los niveles de proteína total. Sin embargo, puede provocar modificaciones en la proporción relativa entre las proteínas del suero lácteo y la caseína. También tiene efectos sobre el nitrógeno no proteico (Ronayne de Ferrer and Sambucetti 1993).

La lactosa es el parámetro de mayor estabilidad ante la variación de la dieta materna, incluso ante situaciones de desnutrición o suplementación.

Con respecto a los micronutrientes, existen algunos minerales que son dependientes de la dieta materna como el yodo y el selenio. Por el contrario, el calcio, hierro, cinc y cobre no se verían afectados por la dieta. Sin embargo, se ha observado que las concentraciones lácteas de hierro, cinc y cobre podrían variar según el área geográfica.

En el caso de la vitamina A, su concentración estaría en relación directa con la alimentación y reservas de la madre, ya que la suplementación no se ve reflejada en el contenido lácteo hasta que los depósitos maternos están cubiertos.

Con respecto a la vitamina D, los efectos de la suplementación materna son muy variables.

Con respecto a las vitaminas hidrosolubles, en general se observa una estrecha relación de la concentración de tiamina, riboflavina, B6, B12 y C en la leche materna y la dieta de la madre. Las reservas de estas vitaminas en el lactante son bajas y se deplecionan rápidamente, lo que los hace muy dependientes del aporte (Macías, Rodríguez, and Ronayne 2006).

## **2.7. Programa Oportunidades y Suplemento Nutrivida.**

En los 90's, el Gobierno federal comenzó la planificación de un programa de inversión en el desarrollo humano, en el cual participaron distintas secretarías como: la de Hacienda, Educación, Salud y Desarrollo Social.

Dicho programa se llamó inicialmente Programa de Educación, Salud y Alimentación (PROGRESA), posteriormente en el 2002 Programa de Desarrollo Humano OPORTUNIDADES.

La población objetivo de este Programa son los hogares cuyas condiciones socioeconómicas y de ingreso impiden desarrollar las capacidades de sus integrantes en materia de alimentación salud y educación.

El Programa opera a nivel nacional, en alrededor de 100 mil localidades, en todos los municipios, con énfasis en los de mayor marginación, en áreas rurales, urbanas y grandes metrópolis.

Considera los siguientes apoyos:

1. Recursos para mujeres, madres de familia, para el ingreso familiar y una mejor alimentación.
2. Becas para niños y jóvenes, a partir de tercero de primaria y hasta el último grado de educación media superior.
3. Apoyo monetario a familias beneficiarias con hijos de 0 a 9 años para fortalecer su desarrollo.
4. Fondo de ahorro para jóvenes que concluyen su Educación Media Superior.

5. Apoyo para útiles escolares.
6. Paquete de servicios médicos y sesiones educativas para la salud.
7. Suplementos alimenticios a niños y niñas entre 6 y 23 meses, y con desnutrición entre los 2 y 5 años. También a las mujeres embarazadas o en periodo de lactancia.
8. Apoyo adicional por cada adulto mayor integrante de las familias beneficiarias, que no reciba recursos del Programa de Pensión para Adultos Mayores de la Sedesol.

Como parte del apoyo del programa están los suplementos alimenticios para embarazadas y mujeres lactantes, los cuales proporcionan micronutrientes en tabletas como: “Nutrívada Tabletas” (Paquete con dos blísteres de 30 tabletas cada uno). En la tabla 6 se muestra la composición nutrimental del suplemento Nutrívada. Se administra una tableta diaria para todas las mujeres embarazadas y en lactancia, equivalente a una dosis (**Unsupported source type (ConferenceProceedings) for source MarcadorDePosición1.**).

A continuación se enumeran las consideraciones para su consumo

- Empezar a tomar la tableta que corresponda al día en que se entregaron, por ejemplo, si es el día 5 del mes, comenzar el paquete tomando la tableta que viene marcada con el número 5.
- Continuar tomando la tableta diariamente hasta terminar el paquete y luego iniciar uno nuevo.
- Tomar la tableta siempre a la misma hora para que no se olvide.
- Conservar en un lugar fresco y seco.
- Si un día se olvida tomar la tableta, tomarla tan pronto se recuerde. Si se acuerda al día siguiente o después, dejar la tableta del día o los días que ya pasaron y continuar con la tableta del día que le toca ( Secretaría Salud 2010).

Tabla 6. Composición Nutricional del Suplemento Nutrivida

<b>Nutrivida tabletas Información Nutricional</b>		
Sodio	0,15	Mg
Vitamina B12	2,6	µg
Vitamina C	100,0	Mg
Vitamina D	200	UI
Vitamina E	10,0	Mg
Hierro	30,0	Mg
Zinc	15,0	Mg
Ácido Fólico	400,0	µg
Yodo	100	µg

(Secretaría Salud 2014)

## **2.8 Metodología utilizada para la determinación de Vitamina C, Compuestos fenólicos totales y capacidad antioxidante en muestras de leche materna.**

Determinación de vitamina C en leche materna

En alimentos como la leche, es relevante identificar y cuantificar el contenido vitamínico, para cumplir con los requerimientos de consumo. La cromatografía líquida de alta eficiencia (HPLC) es una herramienta que ha otorgado un aporte muy importante para la determinación de estos compuestos. (Quesada, Mata-Granados, and Luque 2004)

Se han desarrollado muchos métodos para la estimación de niveles de Vitamina C. La técnica más utilizada para el análisis de ácido ascórbico en alimentos es la cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) usando un detector UV. Algunos métodos para HPLC requieren detección electroquímica o fluorimétrica, debido a la baja capacidad de absorción del DHA en el rango ultravioleta del espectro, pero el equipo necesario no está siempre disponible en los laboratorios. Para resolver este problema, algunos autores proponen la reducción previa del DHA a AA usando DL-dithiothreitol. La cuantificación de este último ácido permite la

estimación indirecta de los niveles de DHA. Por otro lado los métodos enzimáticos utilizan kits de pruebas comerciales para determinar niveles de ácido ascórbico, pero se han asociado varios problemas, por ejemplo en la reducción de ácido dehidroascórbico a ácido ascórbico no se puede medir la especificación de la muestra y la baja recuperación del ácido ascórbico. (48,1)

La concentración de antioxidantes hidrofílicos ácido ascórbico (AA) y dehidroascórbico (DHA) en algunas muestras biológicas por algún tiempo han sido considerados como posibles biomarcadores de estrés oxidativo. El AA y DHA podrían ser también considerados biomarcadores de oxidación de tiempo de almacenamiento de leche humana.

El HPLC es sensible y selectivo de modo que los isómeros estrechamente relacionados pueden ser resueltos. Este método ha permitido a los investigadores obtener datos confiables en el contenido de vitaminas liposolubles e hidrosolubles en leche humana y evaluar el efecto de las variables fisiológicas, dietéticas y de procesamiento en la composición de leche. (Lammi-Keefe and Jensen 1984)

Determinación de Compuestos fenólicos totales por el método de Folín

Se sabe que los compuestos fenólicos reaccionan con el reactivo de Folin-Ciocalteu (tungstofosfato y molibdofosfato) a pH básico, dando lugar a una coloración azul susceptible de una determinación espectrofotométrica a 750 nm.

El ensayo Folin-Ciocalteu, ha sido utilizado durante muchos años, como medida del contenido en compuestos fenólicos totales en productos naturales. El mecanismo básico es una reacción redox, por lo que se puede considerar, como otro método de medida de la actividad antioxidante total. El método que se utiliza actualmente, es una modificación, efectuada por Singleton y Rossi (1965) de un método que se utilizaba, para la determinación de la tirosina, que estaba basado en la oxidación de los fenoles, por un reactivo de molibdeno y wolframio.

Se cuantifica por espectrofotometría en base a una recta patrón de ácido gálico. Se trata de un método preciso y sensible, pero que, aún así, padece numerosas variaciones, cuando es aplicado por diferentes grupos de investigación, fundamentalmente en lo relativo a los volúmenes utilizados de la muestra, concentración de reactivos, tiempo y temperatura de

incubación. También se producen numerosas variaciones, en el modo de expresar los resultados, de manera que el patrón recomendado de ácido gálico, ha sido sustituido, en ocasiones por otros. El ensayo de los fenoles totales, se utiliza con frecuencia en el estudio de las propiedades antioxidantes de alimentos vegetales, como zumos de fruta. (Harunobu, Buxiang, and Carmia 2009)

Determinación de capacidad antioxidante por los métodos de FRAP y DPPH.

#### Método FRAP

Con el fin de valorar la eficacia de los antioxidantes de la dieta, tanto en forma pura como en extracto de los alimentos, así como para determinar la capacidad antioxidante del plasma sanguíneo como un índice del estatus antioxidante in vivo, se han desarrollado diferentes métodos que se fundamentan en diferentes mecanismos. La mayor parte de los métodos se basan en una reacción de transferencia de un electrón (SET por sus siglas en inglés) o en una reacción de transferencia de un átomo de hidrógeno (HAT por sus siglas en inglés) entre un antioxidante y el radical libre. Dentro de los métodos que se basan en el mecanismo SET, en los que se valora la capacidad reductora del antioxidante, uno de los más utilizados de la reducción férrica. Esta metodología consiste en medir el incremento en la absorbancia a 593 nm (azul) que se desarrolla cuando el complejo TPTZ-Fe<sup>+3</sup> se reduce a TPTZ-Fe<sup>+2</sup>. De esta forma, la capacidad antioxidante que presentan los extractos de diferentes alimentos se mide como la capacidad reductora del extracto.

#### Método DPPH

El Fundamento del método desarrollado por Brand-Williams et al<sup>8</sup>, DPPH, consiste en que este radical tiene un electrón desapareado y es de color azul-violeta, decolorándose hacia amarillo pálido por reacción con una sustancia antioxidante; La diferencia de absorbancias, permite obtener el porcentaje de captación de radicales libres (Castañeda, Ramos, and Ibañez 2008).

Los métodos de determinación de la actividad antioxidantes se basan en comprobar como un agente oxidante induce daño oxidativo a un sustrato oxidable, daño que es inhibido o reducido en presencia de un antioxidante. Esta inhibición es proporcional a la actividad antioxidante del compuesto o la muestra (Coba, Lee, and Geovanni 2010).

### III. JUSTIFICACIÓN

Al alimentar a un bebé con leche materna exclusivamente los primeros meses de vida ofrece innumerables beneficios: mejora sus defensas, la digestión y absorción de nutrimentos.

Hay evidencia que demuestra que en el neonato existen procesos que se acompañan del aumento de estrés oxidativo y el consumo de leche humana en esta etapa puede contrarrestar de manera importante los efectos. (Aycicek et al. 2006)

La capacidad antioxidante de la leche materna comprende la bioactividad de numerosos componentes y da estabilidad a la aparición de reacciones de oxidación. Es posible que los antioxidantes presentes en la leche materna como compuestos fenólicos y vitamina C, ayuden a eliminar las especies de oxígeno reactivas en los niños. (Decker 1997)

Cuando la alimentación de la madre es óptima y la cantidad de leche suficiente, la leche materna presenta el patrón de nutrimentos idóneo para el lactante, así como una dinámica en su composición que hace posible que pueda adaptarse a las necesidades del recién nacido.

Los niveles de vitamina C en los lactantes se ve influenciado por su contenido de esta vitamina en la leche materna, esto depende de muchos factores, pero principalmente del estadio de lactancia y del estado nutricional de la madre. (Bourges, Casanueva, and Rosado 2008)

Según la ENSANUT 2006 los promedios de ingestión dietética para los diversos grupos de edad fluctuaron entre 61 y 72 g en frutas y 26 y 56 g en verduras. Los promedios de ingestión dietética total de frutas y verduras fueron: 87.5 g en preescolares, 103.1 g en escolares, 116.3 g en adolescentes y 122.6 g en adultos. Los menores consumos se observaron en la región norte y en la población con los menores niveles de bienestar (Ramirez-Silva et al. 2009).

En México la prevalencia de deficiencia de vitamina C en mujeres en edad reproductiva (12-29 años) es alta (40%) tanto en embarazadas como en no embarazadas.

Es importante promover y evaluar el consumo de frutas y verduras en esta población de mujeres, debido a que afecta directamente en el contenido de vitamina C en la leche materna y la capacidad antioxidante de la misma podría verse disminuida. De acuerdo con la

ENSANUT 2006 menos del 30% del total de la población tuvo consumos adecuados de frutas y verduras, por lo tanto es importante el desarrollo e implementación de estrategias y programas que contribuyan a aumentar el consumo de estos alimentos.

No hay estudios que analicen la relación que existe entre la concentración de compuestos fenólicos en leche materna y la dieta de la madre, así como su relación con la cantidad de vitamina C presente en la leche y la capacidad antioxidante de esta.

El objetivo del programa oportunidades es brindar a las familias apoyo en materia de alimentación, salud y educación y un grupo prioritario dentro de este programa son las mujeres lactantes. Este estudio promueve la valoración en las mujeres que cuentan y no con el programa de oportunidades, mediante cuestionarios, análisis de la alimentación, antropometría y el estudio de la leche materna.

Es relevante evaluar la relación que tiene la presencia de vitamina C en leche materna, la dieta y el consumo del suplemento NUTRIVIDA. Así como evaluar la relación que tiene con la concentración de compuestos fenólicos y la capacidad antioxidante presente en la leche materna.

#### **IV. HIPÓTESIS**

Ha. La concentración de vitamina C, compuestos fenólicos totales y capacidad antioxidante será mayor en mujeres que reportaron un mayor consumo de vitamina C de acuerdo con el recordatorio de 24 horas.

#### **V. OBJETIVOS**

Objetivo General:

Evaluar las concentraciones de vitamina C, compuestos fenólicos y capacidad antioxidante en madres lactantes que acuden al CAISES (CENTRO DE ATENCIÓN INTEGRAL EN SERVICIOS ESENCIALES DE SALUD) perteneciente a la Secretaría de Salud en San Luis de la Paz, Gto.

Objetivos Específicos:

- Estimar la cantidad de vitamina C que consumen las madres lactantes de San Luis de la Paz, Gto de acuerdo al recordatorio de 24 horas.
- Determinar la relación entre la concentración de vitamina C, compuestos fenólicos totales, capacidad antioxidante en leche materna y la alimentación de las madres de San Luis de la Paz, Gto.
- Determinar si la vitamina C, los compuestos fenólicos totales y la capacidad antioxidante tienen valores diferentes en la leche de las madres que cuentan con el programa oportunidades y/o consumen nutrívada al compararla con la leche que no cuenta con e programa o no consumen el suplemento nutrívada.
- Determinar si la vitamina C, compuestos fenólicos totales y capacidad antioxidante tienen valores diferentes en la leche de las madres de zonas urbana y rural.
- Determinar si existe una relación entre la Vitamina C, compuestos fenólicos totales y capacidad antioxidante.

## **VI. METODOLOGÍA**

### **6.1 Diseño del estudio.**

Se realizó un estudio observacional, transversal, descriptivo y comparativo.

### **6.2 Población de estudio y ubicación espaciotemporal**

El reclutamiento y la recolección de muestras se realizó en mujeres lactantes que acudieron al CAISES (CENTRO DE ATENCIÓN INTEGRAL EN SERVICIOS ESENCIALES DE SALUD) perteneciente a la Secretaria de Salud en San Luis de la Paz, Gto. Las muestras de leche materna se analizaron en laboratorios de la Universidad Autónoma de Querétaro en la Facultad de Ciencia Naturales campus Juriquilla. La recolección de las muestras se llevó en el periodo comprendido del mes de enero 2014 a abril 2014.

### **6.3 Criterios de selección.**

Las mujeres participantes fueron aquellas que cumplieron con los criterios de selección y se determinó con la aplicación del cuestionario correspondiente (Anexo 1)

#### **6.3.1 Criterios de inclusión.**

- Mujeres lactantes.
- Que hayan dado a luz a un solo neonato.
- Que hayan establecido exitosamente la lactancia materna exclusiva y alimentación mixta (lactancia materna y fórmula infantil)
- Que hayan aceptado participar en el estudio, previo consentimiento informado.
- Mujeres sin ninguna complicación durante el embarazo como diabetes gestacional, hipotiroidismo, obesidad mórbida, pre-eclampsia, varicela, toxoplasmosis, enfermedades de transmisión sexual, enfermedades cardíaca o renal, etc.

#### **6.3.2 Criterios de exclusión**

- Que durante el embarazo o lactancia hayan consumido alguna sustancia nociva.
- Que durante los últimos tres meses hayan estado tomando algún medicamento como: antihipertensivos, antivirales, antimicóticos, antiparasitarios, antidepresivos, antineoplásicos, antieméticos y fármacos cardiovasculares.
- Que durante los últimos tres meses hayan recibido algún tratamiento hormonal.

#### **6.3.3 Criterios de eliminación**

- Que el participante haya decidido abandonar el estudio.
- Que no se cuente con los datos completos del paciente.
- Que no se haya logrado completar la muestra de leche
- Cualquier razón que el investigador considere por la cual la persona no pueda participar o seguir participando en el estudio.

## **6.4 Procedimiento y estrategias de trabajo.**

**6.4.1 Grupos de estudio.** Se identificaron a las madres lactantes que acudieron a consulta en CAISES San Luis de la Paz, y se les realizó el cuestionario de criterios de inclusión para determinar si podrían ser participantes en el estudio. Se les invitó a participar explicándoles el objetivo del proyecto. Una vez que aceptaron participar se les pidió que firmaran carta de consentimiento informado. (ANEXO 2).

### **6.4.2 Aplicación de encuestas generales.**

Una vez firmado el consentimiento informado se les realizaron los siguientes cuestionarios

1. Historia clínica donde se obtuvieron los datos generales y se le preguntó sobre antecedentes heredo familiares, antecedentes personales patológicos y antecedentes ginecoobstetricos (ANEXO3).
2. Un cuestionario de estudios socioeconómicos (ANEXO 4).
3. Las madres que indicaron que contaban con el programa de Oportunidades se les aplicó el cuestionario de apego al consumo del suplemento Nutrivida (ANEXO 5).

### **6.4.3 Aplicación de encuestas alimentarias.**

1. Se realizó 1 recordatorio de 24 horas (ANEXO 6). Este se llevó a cabo con ayuda del Kit de réplicas de alimentos marca Nasco que incluyó porciones de: arroz, frijoles, pasta, tortilla, pollo, huevo, queso, taza de leche, taza de jugo de naranja, sandía, manzana, 1 taza de ensalada, melón, piña, ejotes, carne de res, zanahoria, jitomate y con el apoyo de tazas y cucharas medidoras.

### **6.4.4 Toma de medidas antropométricas.**

Se realizó la toma de medidas antropométricas según el Manual del Instituto Nacional de Ciencias Médicas Salvador Zuvirán y se registró en el ANEXO 3.

Para la toma de peso se realizó el siguiente procedimiento:

1. Verificar que la báscula esté calibrada, puede ser revisada con ayuda de un peso conocido.
2. Asegurarse que la báscula esté colocada en un piso firme y bien nivelado.
3. Vigilar que al pesar a la madre, sea con el mínimo de ropa posible (sin zapatos ni suéter) y sin accesorios de gran peso.
4. Colocar a la madre en posición de pie, erguida, en el centro de la báscula con los talones juntos y las puntas de los pies ligeramente separadas, los brazos colgados a los lados del cuerpo con las palmas de las manos extendidas tocando suavemente los muslos y la vista al frente. Vigilar que el cuerpo no se apoye sobre objetos cercanos.
5. Registrar la medición y anotarla.
6. Se pedirá a la madre que baje de la báscula.

Se realizó la toma de talla:

1. Verificar que el estadímetro tenga una escuadra con un ángulo de  $90^\circ$  integrada para la medición de la talla.
2. Buscar una superficie firme y plana perpendicular al piso (pared, puerta).
3. Colocar a la madre en posición de firmes sin zapatos, adornos en la cabeza, trenzas o chongos que puedan interferir con la medición. La cabeza, hombros, caderas y talones juntos deberán estar pegados a la pared bajo la línea de la cinta del estadímetro.
4. Mantener la cabeza de la madre en el "plano de Frankfort", es decir, la línea horizontal imaginaria que sale del orificio del oído a la órbita del ojo. Colocar su mano sosteniendo el mentón del individuo.
5. Vigilar que la madre no se ponga de "puntillas" colocando su mano en los pies.
6. Deslizar la escuadra de arriba hacia abajo hasta topar con la cabeza de la madre. Presione suavemente contra la cabeza para comprimir el cabello.
7. Verificar nuevamente que la posición de la madre sea la adecuada.

8. Hacer la lectura a la altura de los ojos en el mismo plano horizontal.

#### **6.4.5 Obtención de las muestras de leche.**

La obtención de la muestra de leche se realizó en un horario de 7 a 14hrs y se registró en el formato correspondiente (ANEXO 7)

En esta consulta se le pidió a la madre la extracción de 40ml de leche. La extracción de la leche se hizo por el método manual o con ayuda de extractor de leche automático (eléctrico) Medela Lactina Select (Medela USA) con intensidad de vacío y número de ciclos por minuto, ajustables.

Durante la toma de leche materna, la madre estuvo en un lugar privado, en el consultorio de Nutrición del CAISES, donde estuvo a disposición una nutrióloga previamente capacitada en temas de lactancia. La extracción se realizó en tubo Falcon, protegiéndolo de la exposición de la luz para evitar la pérdida de antioxidantes. En caso necesario, la madre recibió asesoría y/o ayuda durante la obtención de muestra por parte de la responsable del proyecto. La madre podía alimentar al bebé al momento de la extracción de leche.

A continuación se explica la técnica tanto de extracción manual como de extracción automático.

Extracción manual, de acuerdo con los lineamientos de la OMS:

1. Se deberá lavar las manos cuidadosamente.
2. Deberá de estar en una posición cómoda, ya sea sentada o parada.
3. Se le dará la mamila sin tapa para colocar la leche que vaya extrayendo.
4. Debe colocar el dedo pulgar sobre el pecho por encima del pezón y la areola, y el dedo índice por debajo, opuesto al pulgar. Con los otros dedos sostiene el pecho.
5. Deberá presionar los dedos pulgar e índice ligeramente hacia adentro, hacia la pared torácica, evitando presionar demasiado lejos para no bloquear los conductos de leche.
6. Presionar el pecho que queda detrás del pezón y arearlo entre el pulgar y el índice. Debe presionar los senos lactíferos que queden por debajo de la areola. A veces es posible sentir los

senos lactíferos en un pecho lactante, se siente como maní o arvejas. Si la madre los siente, deberá presionar sobre ellos.

7. Deberá hacer presión y soltar, hacer presión y soltar. Esto no deberá doler; si es así, se debe considerar que la técnica se está llevando a cabo de una manera incorrecta.
8. Puede ocurrir que no salga leche inmediatamente, pero después de hacer presión unas cuantas veces, la leche comienza a gotear, a lo cual pueden seguir “chorros” de leche si el reflejo de oxitocina es activo.
9. Deberá hacer presión en la areola de igual forma por los lados, para asegurarse que se esté extrayendo leche de todos los segmentos del pecho.
10. Deberá evitar frotar o deslizar los dedos sobre la piel.
11. También deberá evitar presionar el pezón ya que al hacerlo no se puede extraer leche, como tampoco puede hacerlo el bebé si succiona solamente el pezón.

Técnica por extractor de leche automático:

1. Antes de cada uso del equipo, se esterilizarán hirviendo todas las piezas del equipo, excepto el conector, motor y el tubo durante 10 minutos asegurándose que todas las piezas floten durante el hervido.
2. Una vez hervidas las piezas se sacarán del agua y se dejarán secar por completo antes de ensamblarlas (estos dos pasos se habrán llevado a cabo antes de la llegada de las participantes).
3. Se colocará el diafragma sobre la parte superior de la base de la copa de succión y se enroscará la tapa del diafragma a la base de la copa de succión.
4. Se colocará la copa de succión a la base de la copa de succión.
5. Se fijará la válvula de presión a la parte inferior de la base de la copa de succión, y sobre ésta se enroscará el biberón para almacenamiento de la leche.
6. Se introducirá el tubo a la parte posterior de la tapa del diafragma, y en el otro extremo del tubo se introducirá el conector del tubo ubicado en el aparato.
7. Una vez ensamblado el extractor se colocará la copa de succión en el seno donde se extraerá la muestra.
8. Se encenderá el aparato, asegurándose de que el regulador de intensidad de succión esté en cero.

9. Se encenderá el extractor para iniciar la fase de estimulación (2 minutos aproximadamente), cuando comience a fluir la leche, se pasará a la fase de extracción aumentando progresivamente el número de ciclos por minuto y la intensidad de succión hasta llegar a una frecuencia y succión cómoda para la madre.
10. Una vez obtenida la cantidad de muestra deseada, se apagará el extractor, aún colocado en el seno, asegurándose de que no haya succión en el pezón antes de retirar las copas de succión.
11. En caso de haber succión en el pezón, con el extractor apagado, se cortará la succión provocada por el vacío existente introduciendo un dedo entre la copa de succión y el seno.

Luego de recolectada la muestra fue almacenada en hielera con gel previamente congelado. La leche permaneció en un refrigerador a 4°C antes de la ultracongelación (-70°C) (Antonakou *et al.* 2012). Todas las muestras fueron preservadas y protegidas de la luz.

Las muestras se trasladaron a la UAQ campus Juriquilla el día de la toma donde fueron alícuotadas y guardadas en ultracongelador (-70°C) para su posterior análisis.

## **6.5 Métodos:**

Las siguientes determinaciones de vitamina C, Compuestos fenólicos totales y capacidad antioxidante se realizaron en la Facultad de Ciencias Naturales campus Juriquilla de la Universidad Autónoma de Querétaro; en los Laboratorios de: Nutrición Humana y Biología Celular.

### **6.5.1 Determinación del contenido total de vitamina C por HPLC:**

**OBJETIVO:** Determinar los niveles totales de Vitamina C en leche materna.

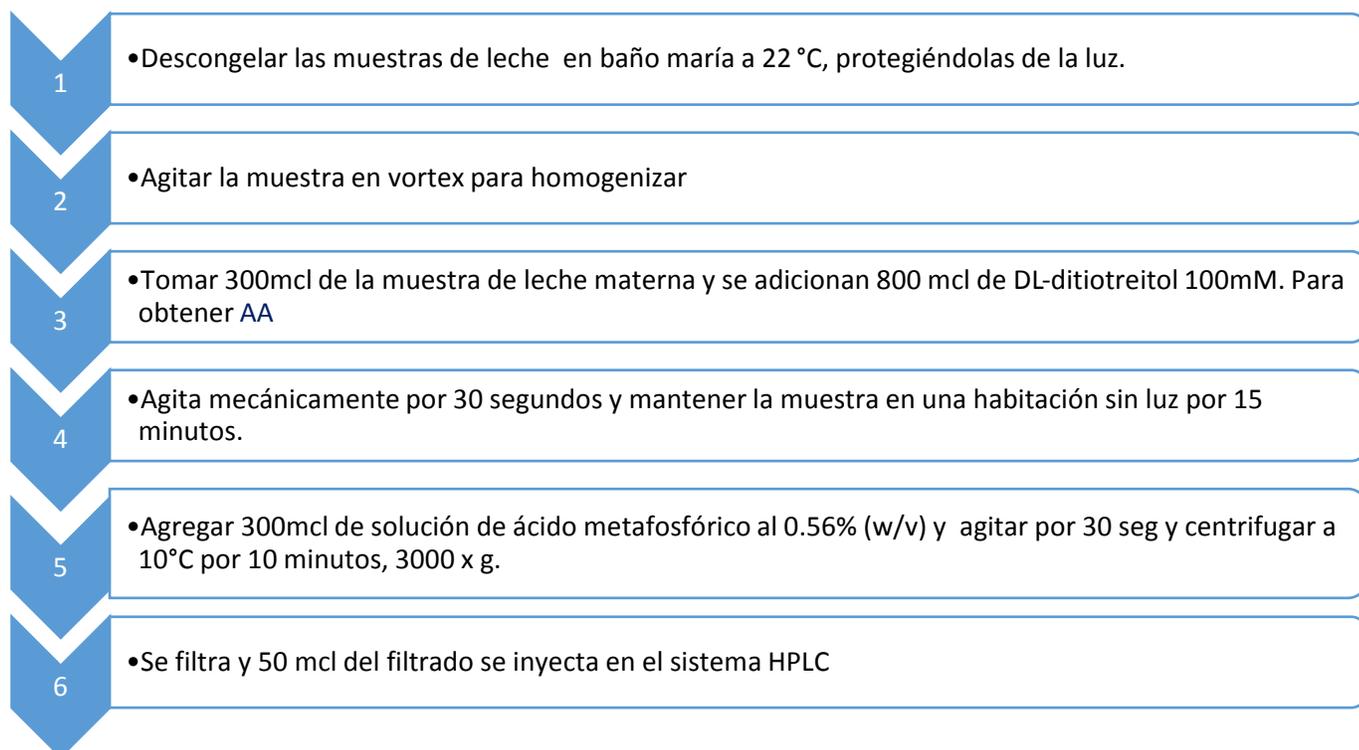
**MATERIALES Y REATIVOS;** Agua MILLI Q, Ácido ascórbico estándar al 99.7% (SIGMA), Ácido meta-fosfórico al 56% con pureza del 33.5-36.5% (SIGMA), Ácido acético grado HPLC (BAKER), Metanol grado HPLC (BAKER), DL-ditiotreitol 99% (SIGMA), Sistema HPLC con una columna SunFire C18 Sentry Guard Cartridge, 100 A, 5 µm, 4.6 mm x 20mm.

**PROCEDIMIENTO:** se descongelaron las muestras de leche materna a 22°C en baño María, protegidos de la luz. Posteriormente se agitaron vigorosamente en Vortex durante 2 minutos para homogenizarla. Después en un tubo de centrifuga se mezclaron 300mcl de la muestra de

leche con 800 mcl de DL-diithiothreitol 100Mm, de esta manera se reduce el ácido dehidroascorbico (DHA) a ácido ascórbico (AA). Enseguida se agitó la mezcla mecánicamente por 30 segundos y se mantuvo en una habitación sin luz por 15 minutos. Una vez hecho esto, se añadieron 300mcl de ácido meta fosfórico 0.56% (w/v), se agito la mezcla por 30 segundos y se centrifugo a 3000 RFC a 10°C por 10 minutos. De la mezcla obtenida después del filtrado se tomó el sobrenadante y se filtró con una jeringa de vidrio y un filtro de naylor de 22nm. Se inyectaron 50 mcl de la solución filtrada en el sistema HPLC. Se utilizó una fase móvil de agua HPLC con ácido acético (0.1% v/v) y metanol en proporción 95:5 (v/v) (Romeu-Nadal et al. 2006). La determinación de vitamina C en leche materna se realizó por HPLC en fase reversa, a una longitud de onda de 254nm. La identificación de ácido ascórbico se obtuvo comparando el tiempo de retención del pico de la muestra con el del estándar de ácido ascórbico externo.

El método consistió en extraer la vitamina C de la leche en una solución acuosa para ser analizada por HPLC. Se realizó una determinación cuantitativa y cualitativa mediante patrones y rectas de calibrado.

**Figura 4. Diagrama del método para la determinación de vitamina C en leche materna por HPLC.**



La determinación de capacidad antioxidante, se determinó por el método de FRAP y DDPH

### 6.5.2 Determinación de la capacidad antioxidante por método FRAP

**OBJETIVO:** valora la capacidad antioxidante mediante la técnica FRAP (poder antioxidante reductor del hierro).

**MATERIAL Y REACTIVOS:** se utilizó acetato de Sodio (SIGMA), TPTZ: 2,4,6-tripiridil-s-triazine (SIGMA),  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ , Ácido clorhídrico al 37.9% (BAKER), Agua HPLC (BAKER), Espectrofotómetro ELISA, Placa para Espectrofotómetro Elisa de 90 pozos, Potenciómetro

**PROCEDIMIENTO:** se determinó la capacidad de la muestra para reducir un complejo férrico con la molécula tripiridil s-triazina (TPTZ) a su forma ferrosa (pH bajo). Durante este proceso se generó una coloración azul, de intensa proporcionalidad a la capacidad reductora de la muestra (se genera un complejo ferroso-TPTZ) que puede cuantificarse por colorimetría (593nm) en base a un patrón de sulfato ferroso.

Para la realización del método se prepararon los siguientes reactivos:

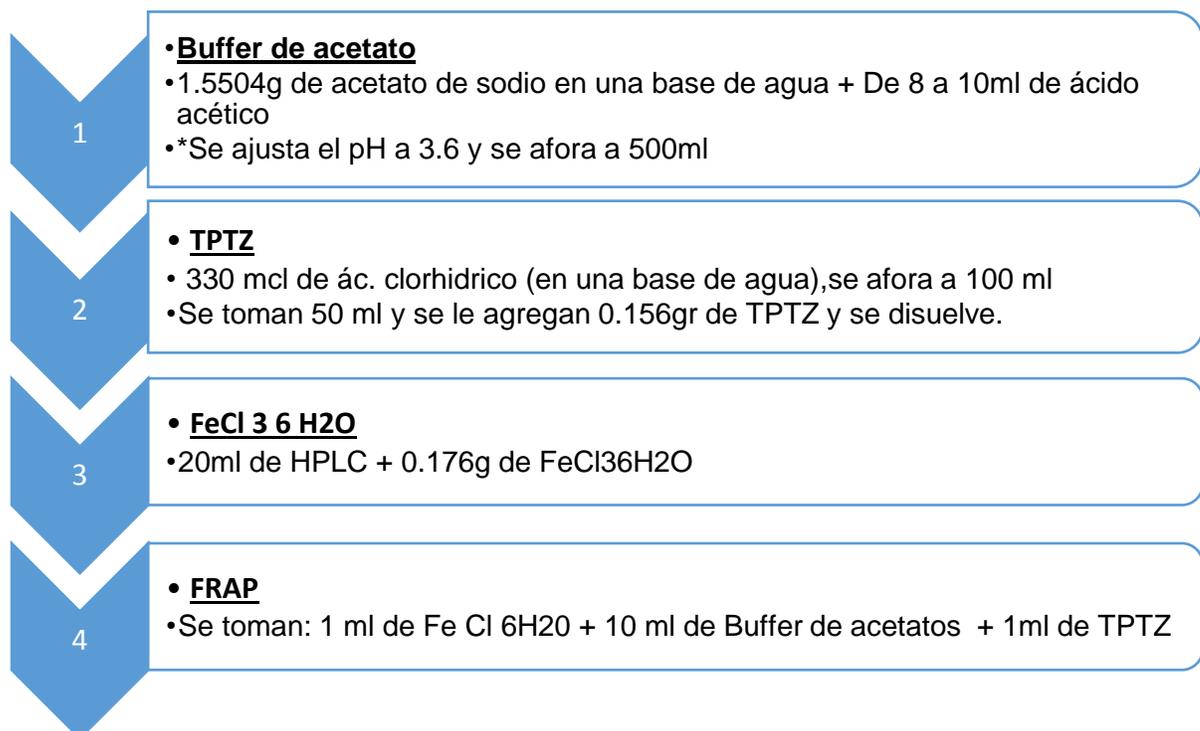
- Buffer de acetato: se pesaron 1.55g de acetato de sodio en un pesa sustancias de cristal. Después en un matraz de 1L previamente forrado con aluminio, se disolvió el acetato de sodio en una base de agua HPLC, con ayuda de una probeta de 100ml para llegar a un total de 500 ml. Se agregaron 8ml de ácido acético glacial y se colocó un agitador magnético en el matraz de 1 L sobre un oscilador y se ajustó el pH a 3.6 con el potenciómetro.
- TPTZ: Se colocaron 50ml de agua HPLC en un matraz de 100ml y se agregaron 330 microlitros de ácido clorhídrico y se agitó en vortex por 5 minutos, se aforo con agua HPLC. De la solución anterior se tomaron 50ml y se le agregaron 0.156g de TPTZ, y se agitó con vortex para homogenizar.
- Cloruro Ferrico  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ : se pesaron 0.176g de  $\text{FeCl}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$  en un pesa sustancias de cristal. Después en un vaso de precipitados o frasco de vidrio forrado de papel aluminio se agregaron 20 ml de agua HPLC y se agregó el cloruro férrico. Se agitó con un agitador magnético por 3 minutos.

- Ácido ascórbico 10,000 mM Stock: Se pesaron 0.0176g de ácido ascórbico en un pesa sustancias de vidrio, posteriormente se agregó a un matraz de 100ml previamente forrado con aluminio y se disolvió con agua HPLC sin llegar al aforo. Se tapó el matraz con papel parafilm y se agitó por inversión 10 veces, para después aforar con agua HPLC.
- Reactivo de FRAP: se ocupó una concentración de 10:1:1, en un vaso de precipitados de 25ml forrado de aluminio se prepararon; 10ml de buffer de acetato, 1 ml de TPTZ y 1 ml de cloruro férrico.

Una vez preparado el reactivo de FRAP, se procesó la muestra en donde se tomaron 60mcl de muestra y se adicionaron 240mcl del reactivo de FRAP para su análisis. También se llevó a cabo la curva de calibración.

Una vez leída la placa se procesaron los resultados en Excel, se sacó un promedio de los datos triplicados y se realizó una curva de dispersión lineal.

**Figura 5. Diagrama del método FRAP para la determinación de capacidad antioxidante en leche materna.**



### 6.5.3 Determinación de la capacidad antioxidante por método DPPH

**OBJETIVO:** determinar la actividad antioxidante en las muestras de leche materna por medio del método de DPPH.

**MATERIAL Y REACTIVOS:** se utilizó el reactivo DPPH ( 1,1-difenil-2-picrilhidrazil) (SIGMA), ácido ascórbico (SIGMA), Metanol (BAKER), agua HPLC (BAKER), placa para lectura de muestras, micropipetas, espectrofotómetro ELISA, balanza analítica, centrífuga.

**PROCEDIMIENTO:** se descongeló la muestra en baño maría y se protegió de la luz.

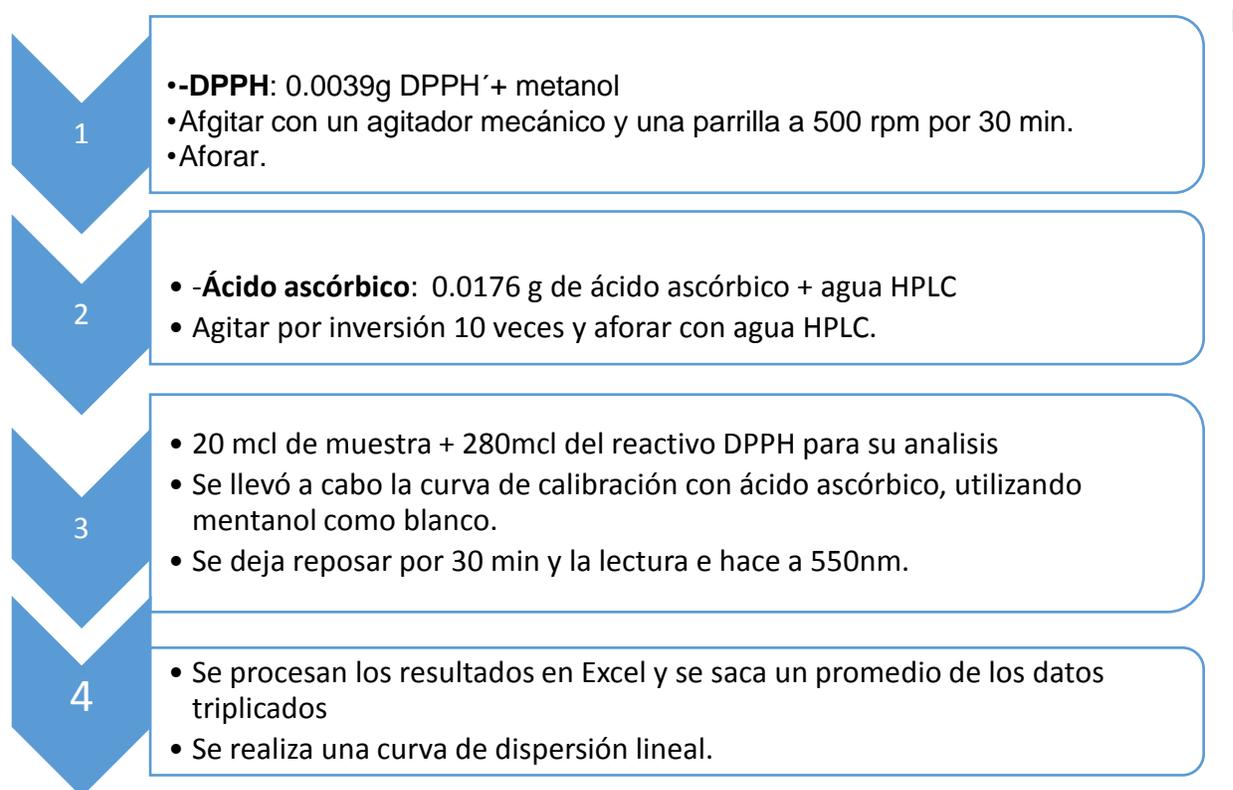
Para la realización de esta técnica se prepararon los siguientes reactivos:

- DPPH: se pesaron 0.0039g del reactivo, posteriormente se colocó en un matraz de 100ml y se disolvió con Metanol sin llegar al aforo. Se agitó con un agitador mecánico y una parrilla a 500 rpm por 30 min. Después se aforó con metanol.
- Ácido ascórbico: se pesaron 0.0176 g de ácido ascórbico y se colocó en un matraz de 100ml y se disolvió con agua HPLC, sin llegar al aforo. Se agitó por inversión 10 veces y se aforó con agua HPLC.

Una vez preparado el reactivo de DPPH y el ácido ascórbico, se procesó la muestra en donde se tomaron 20mcl de muestra y se adicionaron 280mcl del reactivo de DPPH para su análisis. También se llevó a cabo la curva de calibración con ácido ascórbico, utilizando metanol como blanco. Se dejó reposar por 30 minutos y la lectura de la placa se hizo a 550nm

Una vez leída la placa se procesaron los resultados en Excel, se sacó un promedio de los datos triplicados y se realizó una curva de dispersión lineal.

**Figura 6. Diagrama del método DPPH para la determinación de capacidad antioxidante en leche materna.**



#### **6.5.4 Determinación de la compuestos fenólicos totales**

**MATERIAL Y REACTIVOS:** se utilizó metanol, acetato de zinc 99.5% (219.5g), agua HPLC (2000ml), ácido acético glactar 99.7% (30ml), hexacianoferrato (II) de potasio 3-hidrato 99-102% (106.0g), acetonitrilo, ácido gálico (2 mg/ml), agua HPLC (90 ml aprox), reactivo de Folin, reactivo  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  (3.5 g) y un espectrofotómetro ELISA.

**PROCEDIMIENTO:** el método se realizó con la luz apagada. Se prepararon los siguientes reactivos por separado:

- Solución metanol-agua al 50%, en donde se agregaron 250ml de metanol y 250ml de agua para obtener 500ml de la solución al 50%.
- Reactivo Carrez I: Se disolvieron 219.5g de acetato de zinc en agua en un vaso de precipitados y se pasaron, enjuagando el vaso, a un matraz aforado de 1000ml y se añadieron 30 ml de ácido acético, se mezclaron bien y se enrasaron con agua.

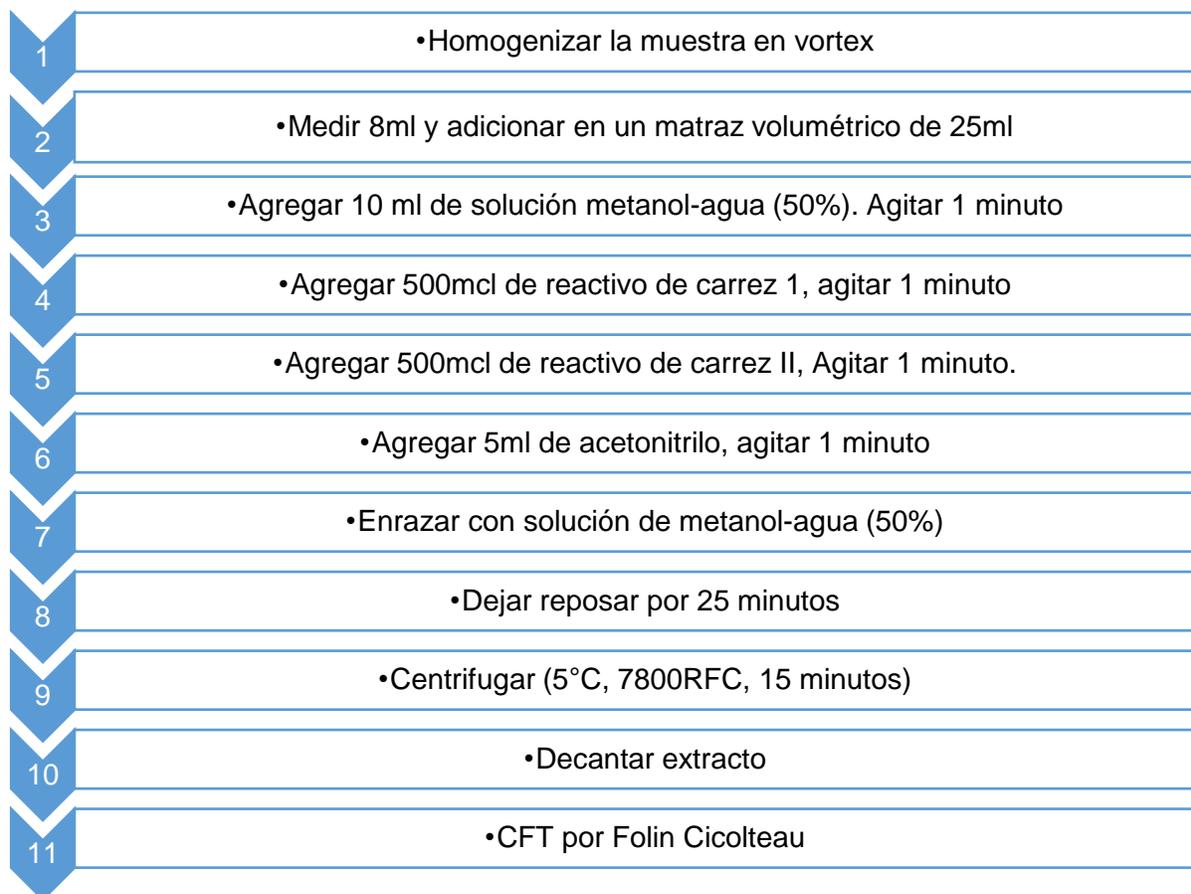
- Reactivo Carrez II: Se disolvieron 106.0 g de hexacianoferrato (II) de potasio en agua, en un vaso de precipitados, se pasaron, enjuagando el vaso a un matraz aforado de 1000ml, se mezclaron bien y se enraso con agua.
- Acetonitrilo

#### MÉTODO DE FOLÍN CICOULTEAU

- Ácido gálico: se pesaron 50 mg de ác. Gálico y se aforo a 25 ml de agua HPLC en un matraz, la mezcla anterior se vertió en un tubo falcon envuelto en aluminio y tapado.
- Carbonato de sodio  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  (7%): se pesaron 3.5 g de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  y se agregaron 50 ml de agua HPLC, se colocó un agitador. Se utilizó una parrilla eléctrica a una agitación No.4 hasta su dilución, ya disuelto se retiró y se envolvió en papel aluminio y se tapó.
- Reactivo de Folin.

Después de preparar los reactivos se tomaron 8ml de leche y se colocaron en un matraz volumétrico de 25ml, se homogeneizó mecánicamente con un vortex. Se añadieron 10 ml de solución de metanol-agua (50%) y se agitó durante un minuto. Posteriormente se agregaron 500mcl de los reactivos carrez 1 y carrez 2 y se agitó por un minuto. Se agregaron 5 ml de acetonitrilo y se agitó por un minuto y finalmente se aforó con solución de metanol-agua. La mezcla anterior se dejó reposar por 25 minutos y se centrifugó por 15 minutos a 5°C a 7800 RFC. El extracto fue decantado, se realizó la curva de calibrado con ácido gálico y se hizo el llenado de la placa para medir las absorbancias en el espectrofotómetro.

**Figura 7. Diagrama del método de Folin Cicoulteau para la determinación de compuestos fenólicos totales en leche materna.**



### **6.5.5 Análisis estadístico**

Se hizo una comparación de medias con la prueba T de student entre los grupos de frutas, verduras y frutas y verduras, por gramos y por contenido de vitamina C en miligramos de acuerdo al recordatorio de 24 hrs. Se compararon cada una de las variables estudiadas contra la concentración de vitamina C, compuestos fenólicos totales y capacidad antioxidante. Se utilizó un intervalo de confianza del 95% y un valor de significación  $p < 0.01$ . Los datos fueron tratados con el programa SPSS v18.

Se determinó el consumo de frutas y verduras por medio de un recordatorio de 24 horas y se estimó el consumo de vitamina C en gramos al día. Los grupos se dividieron en grupo 1 y grupo 2 de acuerdo a los siguientes parámetros:

**Tabla 7. División de la población según el consumo estimado en gramos de frutas y verduras de acuerdo al recordatorio de 24 horas.**

Grupo	Grupo 1	Grupo 2
Frutas	0-106 g	107- 560 g
Verduras	0-42 g	43- 413 g
Frutas y verduras	0-176g	177-658 g

**Tabla 8. División de la población según el consumo estimado en miligramos de vitamina C de acuerdo al recordatorio de 24 horas.**

Grupo	Grupo 1	Grupo 2
Frutas	0-21mg	50- 424 g
Verduras	0-86mg	87-448 g
Frutas y verduras	0-129mg	130- 613 g

## VII RESULTADOS Y DISCUSIONES

### 7.1 Características de la población y de las muestras estudiadas.

Se estudió la leche de 24 madres lactantes que acudieron al CAISES. La cantidad de muestra obtenida para el análisis del contenido de vitamina C fue de 2 ml por duplicado.

Las muestras fueron etiquetadas y almacenadas a una temperatura de  $-70^{\circ}\text{C}$  hasta el momento de su análisis.

En la siguiente tabla se muestra las características y generalidades de la población estudiada:

**Tabla 9. Características generales de la población.**

<b>Variable</b>	<b>Media y desviación estándar</b>	<b>Máximo</b>	<b>Mínimo</b>
Edad (años)	29.04±8.35	44	16
Peso (Kg)	64.99±14.69	99	43.50
Talla (metros)	1.54±.062	1.38	1.69
IMC (kg/m <sup>2</sup> )	27.26±5.22	38.22	18.98
Número de gestas	3.04±1.87	8	1
Ingreso (pesos)	2000 a 3000	5000 a 6000	Menos de 2000

IMC: índice de masa corporal

**Tabla 10. División de la población de acuerdo a la zona que pertenecen, apoyo del programa oportunidades y suplemento NUTRIVIDA.**

Variable	Número de muestra	Porcentaje (%)
Zona Rural	18	75
Zona urbana	6	25
Cuentan con el programa oportunidades	15	62.5
No cuentan con el programa oportunidades	9	37.5
Consumo de NUTRIVIDA	17	70.8
No consumo de NUTRIVIDA	7	29.2

## 7.2 Determinación del consumo estimado de vitamina C de acuerdo al recordatorio de 24 horas.

En la siguientes tablas se muestra el consumo estimado en gramos de frutas y verduras de acuerdo al recordatorio de 24 horas, así como una estimación de los miligramos de vitamina C que consumen las madres participantes.

**Tabla 11. Consumo estimado de frutas y verduras de acuerdo al recordatorio de 24 horas.**

Alimento	Media y error típico de media	Mínimo	Máximo
Frutas (g/día)	120.20±25.86	0.00	576
Verduras (g/día)	84.44±22.42	0.00	413
Frutas y verduras (g/día)	204.65±32.04	0.00	658.50

Tabla 12. Consumo estimado de vitamina C de acuerdo al consumo de frutas y verduras registrado en el recordatorio de 24 horas.

Alimento	Media y error típico de media	Mínimo	Máximo
Contenido de vit C en frutas (mg/día)	102.30±26.67	0.00	423.41
Contenido de vitamina C en verduras (mg/día)	88.42±21.02	0.00	447.55
Contenido de vitamina C en frutas y verduras (mg/día)	198.59±36.37	13.28	612.25

Como se puede observar el consumo de frutas y verduras es muy bajo en la población estudiada, ya que de acuerdo con la OMS y la FAO se esperaría un consumo mínimo de 400g diarios de frutas y verduras (excluidas las papas y otros tubérculos feculentos), lo cual ayuda a prevenir enfermedades crónicas como las cardiopatías, el cáncer, la diabetes o la obesidad, así como para prevenir varias carencias de micronutrientes, sobre todo en los países menos desarrollados.

La estrategia mundial de la OMS sobre régimen alimentario, actividad física y salud hace hincapié en el aumento del consumo de frutas y verduras como una de las recomendaciones a tener en cuenta al elaborar las políticas y directrices dietéticas nacionales para la población.

El consumo de vitamina C está muy por debajo de la dosis diaria recomendada, ya que las recomendaciones de consumo sugeridas por el Food and Nutrition Board va de 115 a 120 mg/día en mujeres lactantes, y nuestra población presenta un nulo o mínimo consumo de esta vitamina por medio de la dieta.

Para las madres que consumen el suplemento NUTRIVIDA (n=17), la concentración de vitamina C estimada de la dieta asciende a 225.27mg/día en promedio con una desviación estándar de 202.10, un mínimo de 21.96 mg/día y un máximo de 612.25 mg/día. Lo que significa que al consumir el suplemento podría ayudar a cubrir el requerimiento diario debido a que de acuerdo a la información nutrimental, este ofrece 100mg/día de Vitamina C; siendo la

recomendación una tableta diaria como dosis única para todas las mujeres embarazadas y en lactancia.

### 7.3 Determinación de la relación entre la concentración de vitamina C, compuestos fenólicos totales y capacidad antioxidante en leche materna.

A continuación en la siguiente tabla se muestran los parámetros evaluados de las concentraciones de vitamina C, compuestos fenólicos y capacidad antioxidante en la leche de las madres participantes.

**Tabla 13. Contenido de vitamina C, compuestos fenólicos totales y Capacidad antioxidante por los métodos de DPPH y FRAP en leche materna**

Variable	Media y desviación estándar
Vitamina C (mcg/ml)	44.30±22.45
Compuestos fenólicos totales (mg equiv AG/L de LM)	54.29±25.71
Capacidad antioxidante por FRAP(mcg AA/ml de LM)	3.76±.56
Capacidad antioxidante por DPPH (mcg AA/ml de LM)	9.88±3.13

AG (ácido gálico), AA (ácido ascórbico), LM (leche materna)

Romeu-Nadal, M en el 2006 reportó concentraciones de  $43.21 \pm 0.13$  mcg/ml de Vitamina C total en leche materna por el método de HPLC añadiendo diitiotreitol para reducir el ácido dehidroascórbico a ácido ascórbico y de  $28.8 \pm 0.15$  mcg/ml por un método enzimático, demostrando que el método de HPLC dio resultados más satisfactorios debido a que el método enzimático no determina el total de Vitamina C porque la reducción del ácido dehidroascórbico a ácido ascórbico no puede ser medida.

Los resultados de las concentraciones de Vitamina C total que obtuvimos de las muestras de leche de las madres participantes en nuestro estudio ( $44.30 \pm 22.45$  mcg/ml), fueron similares a los reportados por Romeu-Nadal. (Romeu-Nadal et al. 2006)

En un estudio realizado por Wende, Li et al en el 2009 reportó la presencia de compuestos fenólicos en leche materna con concentraciones entre los 422 hasta 751 mg equiv de ácido fenurico/Kg. En este estudio se determinaron los compuestos fenólicos totales presentes en la leche de 6 madres lactantes utilizando el método Folin-Ciocalteu (Beta et al. 2005) y la capacidad antioxidante con el método de DPPH usado de acuerdo con Brand-Williams et al (Brand-Williams, Cuvelier, and Berset 1995) y Li et al (Li et al. 2007). En nuestro proyecto también encontramos presencia de compuestos fenólicos en leche materna y se reportaron como mg equivalentes de ácido gálico.

En el 2011 Asghar et al; evaluaron el efecto de la suplementación de vitaminas C y E sobre la capacidad antioxidante en leche materna utilizaron los métodos de FRAP y DPPH. En nuestro estudio los resultados fueron  $3.76 \pm 0.56$  mcg AA/ml y  $9.88 \pm 3.13$  mcg AA/ml para FRAP y DPPH respectivamente.

**7.4 Determinación de la concentración de vitamina C estimado de acuerdo al recordatorio de 24 horas comparado por zona, consumo del suplemento Nutrívada y programa oportunidades.**

En las tablas que se presentan a continuación se muestra el contenido de vitamina C estimado de acuerdo al recordatorio de 24 horas de las mujeres participantes comparado por zona en la que viven, consumo del suplemento Nutrívada y la participación en el programa oportunidades.

<b>Tabla 14. Comparación del contenido de vitamina C (mg/día) de acuerdo al recordatorio de 24 horas entre zona urbana y rural, el consumo del suplemento Nutrívada y la participación al programa.</b>		
<b>RURAL</b>	<b>URBANA</b>	<b>SIGNIFICANCIA</b>
N=18	N=6	
187.71 ±175.13	231.26 ±200.24	0.648
<b>OPORTUNIDADES</b>	<b>NO PORTUNIDADES</b>	<b>SIGNIFICANCIA</b>
N=15	N=9	
193.28 ±179.98	207.46 ±185.68	0.857
<b>CONSUMO DE NUTRIVIDA</b>	<b>NO CONSUMO DE NUTRIVIDA</b>	<b>SIGNIFICANCIA</b>
N=17	N=7	
225.27 ±202.10	133.82 ±76.85	0.123

En estos resultados se puede observar que existe un mayor consumo de vitamina C proveniente de la dieta (g/día) en la zona urbana, esto puede deberse a que existe una mayor accesibilidad y disponibilidad en ésta zona, sin embargo no hay diferencia significativa entre estos dos grupos. Por otro lado las madres que no cuentan con el programa de oportunidades también muestran un mayor consumo de vitamina C comparadas con las que tienen los beneficios del programa. Podría pensarse que las madres que son beneficiarias tendrían una mayor accesibilidad de alimentos y tener un buen consumo de frutas y verduras, pero no

podemos saber que uso tiene el aporte económico que les hace el programa. Tampoco se encontró diferencia significativa entre estos dos grupos.

Las madres que consumen Nutrivida presentaron mayores niveles en el consumo de vitamina C, tomando en cuenta que este análisis se realizó sin considerar la cuantificación del contenido del suplemento junto con la dieta, su consumo en frutas y verduras fue bueno. No existe diferencia significativa entre las que consumen el suplemento y las que no.

En esta tabla se muestra la misma comparación del contenido de vitamina C estimado según el recordatorio de 24 horas más la adición de los 100mg de vitamina C aportados por el suplemento Nutrivida, con la zona, el consumo del suplemento y la participación al programa..

**Tabla 15. Comparación del contenido de vitamina C (mg/día) de acuerdo al recordatorio de 24 horas + 100mg (Nutrivida) entre zona urbana y rural, el consumo del suplemento Nutrivida y la participación al programa.**

<b>RURAL</b>	<b>URBANA</b>	<b>SIGNIFICANCIA</b>
N=18	N=6	
287.71 ±175.13	331.26 ±200.24	0.368
<b>OPORTUNIDADES</b>	<b>NO OPORTUNIDADES</b>	<b>SIGNIFICANCIA</b>
N=15	N=9	
293.28 ±179.98	179.98 ±185.68	0.689
<b>CONSUMO DE NUTRIVIDA</b>	<b>NO CONSUMO DE NUTRIVIDA</b>	<b>SIGNIFICANCIA</b>
N=17	N=7	
325.27 ±202.10	233.82 ±76.85	0.670

En los resultados anteriores se consideró el aporte que hace el suplemento NUTRIVIDA que es de 100mg/día por tableta a lo cual se sumaron los gramos de vitamina C que se cuantificaron de acuerdo al recordatorio de 24 horas sobre el consumo de frutas y verduras.

No se encontró ninguna diferencia significativa entre zona urbana y rural, las madres que consumían oportunidades y las que no, así como entre las que consumía NUTRIVIDA y las que no. El consumo del suplemento NUTRIVIDA parece no generar cambios significativos dentro de la población estudiada.

### 7.5 Determinación de la relación que existe entre la concentración de vitamina C, compuestos fenólicos totales y capacidad antioxidante con los gramos de frutas y verduras consumidos por las madres participantes.

A continuación se presentan los valores de Vitamina C, Compuestos fenólicos totales y capacidad antioxidante por los métodos de DPPH y FRAP en leche materna de acuerdo a los gramos de frutas, verduras, frutas y verduras y el consumo de vitamina C presente en los alimentos.

Tabla 16. Contenido de vitamina C, compuestos fenólicos totales y capacidad antioxidante en leche materna de acuerdo al consumo de frutas.

Valores en leche	Grupo1= 0-106g (n=12)	Grupo2= 2-107g (n=12)	Significancia
Vitamina C (mg/ml)	37.98±24.71	50.62±18.86	0.174
CFT (mg AG/l)	48.86±24.19	59.72±27.06	0.311
DPPH (μ AA/ml)	9.49±3.94	10.26±2.16	0.562
FRAP (μ AA/ml)	3.60±.60	3.91±.49	0.180

CFT: compuestos fenólicos totales, AA: ácido ascórbico, AG: ácido gálico, FRAP y DPPH: Métodos para determinar capacidad antioxidante. Grupo 1 y 2: cantidad en gramos de frutas y verduras consumida por las madres participantes de acuerdo al recordatorio de 24 horas.

En la tabla anterior se puede observar que el grupo 2 (de 107 a 659g) presenta mayores concentraciones de vitamina C, compuestos fenólicos totales, y capacidad antioxidante en leche materna, sin embargo este aumento en la concentración de los valores anteriormente descritos no muestra diferencia significativa entre el grupo 1 (0 a 106g) y el 2 (107 a 659g).

Tabla 17. Contenido de vitamina C, compuestos fenólicos totales y capacidad antioxidante en leche materna de acuerdo al consumo de verduras.

Valores en leche	Grupo1= 0-42g (n=11)	Grupo2= 43-413g (n=13)	Significancia
Vitamina C (mg/ml)	53.45±20.66	36.56±21.64	0.064
CFT (mg AG/l)	64.06±24.92	46.02±24.24	0.088
DPPH (μ AA/ml)	11.80±1.55	8.25±3.25	0.003*
FRAP (μ AA/ml)	4.04±.41	3.51±.56	0.015*

CFT: compuestos fenólicos totales, AA: ácido ascórbico, AG: ácido gálico, FRAP y DPPH: Métodos para determinar capacidad antioxidante.

El consumo en gramos de verduras fue todavía menor al de frutas presentando mayores concentraciones de vitamina C y CFT en leche materna en el grupo 1(0 a 42g), pese a esto no existe diferencia significativa entre el grupo 1(0 a 42g) y 2 (43 a 413g).

En cuanto a la capacidad antioxidante, si existe diferencia significativa entre el grupo 1 y 2 en los dos métodos DPPH (.003) y FRAP (.015), presentando mayor concentración en el grupo 1 en ambos métodos. Esto puede deberse a que las verduras consumidas por este grupo eran ricas en vitamina C y compuestos antioxidantes.

Tabla 18. Contenido de vitamina C, compuestos fenólicos totales y capacidad antioxidante en leche materna de acuerdo al consumo de frutas y verduras.

Valores en leche	Grupo1= 0-176g (n=13)	Grupo2= 177-658g (n=11)	Significancia
Vitamina C (mg/ml)	43.95±24.22	44.72±21.32	0.935
CFT (mg AG/l)	58.17±26.76	49.71±24.86	0.431
DPPH (μ AA/ml)	10.58±2.98	9.05±3.25	0.247
FRAP (μ AA/ml)	3.80±.51	3.71±.63	0.706

CFT: compuestos fenólicos totales, AA: ácido ascórbico, AG: ácido gálico, FRAP y DPPH: Métodos para determinar capacidad antioxidante.

En cuanto a los resultados del consumo de frutas y verduras en gramos, el grupo 1 (0 a 176g) presenta mayor concentración de Compuestos Fenólicos Totales y Capacidad antioxidante por DPPH y FRAP, y mayor concentración de vitamina C en el grupo 2 (177-658g). No hubo diferencia significativa en entre el grupo 1 y 2 en ninguna de las variables estudiadas. Estos resultados podrían deberse a que en este caso las mujeres del grupo 1 consumieron frutas y verduras más ricas en compuestos fenólicos y otros compuestos antioxidantes que las del grupo 2. Y las del grupo 2 consumieron frutas y verduras más ricas en vitamina C que el grupo1.

**7.6 Determinación de la relación que existe entre la concentración de vitamina C, compuestos fenólicos totales y capacidad antioxidante y la concentración de vitamina C determinada en frutas y verduras consumidos por las madres participantes.**

Tabla 19. Contenido de vitamina C, compuestos fenólicos totales y capacidad antioxidante en leche materna de acuerdo a la concentración de vitamina C determinada en frutas.

Valores en leche	Grupo1= 0-21g (n=11)	Grupo2=50-424g (n=13)	Significancia
Vitamina C (mg/ml)	39.71±17.05	48.18±26.23	0.353
CFT (mg AG/l)	43.91±22.36	63.07±25.84	0.064
DPPH (μ AA/ml)	9.58±1.96	10.13±3.93	0.663
FRAP (μ AA/ml)	3.71±.54	3.80±.59	0.700

CFT: compuestos fenólicos totales, AA: ácido ascórbico, AG: ácido gálico, FRAP y DPPH: Métodos para determinar capacidad antioxidante.

Cuando se dividió a la población en dos grupos de acuerdo al consumo estimado de vitamina C según el consumo de frutas registrado en el recordatorio de 24 horas, se encontró que, en el grupo 2 (50 a 424g de vitamina C en la dieta) los valores de vitamina C, compuestos fenólicos totales y capacidad antioxidante fueron mayores. Aunque no se encontró diferencia significativa entre los grupos 1 y 2.

Podría decirse que a mayor consumo de vitamina C y compuestos antioxidantes en la dieta mayor contenido de estos se encontrará en la leche materna. Se sabe que la vitamina C procedente de la dieta de la madre, influye de los niveles de dicha vitamina en la leche materna.

Tabla 20. Contenido de vitamina C, compuestos fenólicos totales y capacidad antioxidante en leche materna de acuerdo a la concentración de vitamina C determinada en verduras.

Valores en leche	Grupo1=0-86g (n=15)	Grupo2= 87-448g (n=9)	Significancia
Vitamina C (mg/ml)	48.44±22.13	37.40±22.49	0.258
CFT (mg AG/l)	52.93±24.68	56.56±28.72	0.757
DPPH (μ AA/ml)	10.15±2.81	9.43±3.74	0.629
FRAP (μ AA/ml)	3.78±.49	3.72±.68	0.811

CFT: compuestos fenólicos totales, AA: ácido ascórbico, AG: ácido gálico, FRAP y DPPH: Métodos para determinar capacidad antioxidante.

De acuerdo al consumo de vitamina C presente en las verduras consumidas, el grupo 1 (0 a 86g) presentó mayor concentración en vitamina C y capacidad antioxidante pero no hubo diferencia significativa. El grupo 2 (87 a 448g) presentó mayor concentración de compuestos fenólicos totales y tampoco se encontró diferencia significativa.

El consumo de verduras fue menor en gramos que el de frutas, pero las concentraciones de vitamina C de acuerdo al recordatorio de 24 horas es similar al de frutas. Esto podría ser porque las verduras consumidas en su mayoría fueron ricas en esta vitamina.

Tabla 21. Contenido de vitamina C, compuestos fenólicos totales y capacidad antioxidante en leche materna de acuerdo a la concentración de vitamina C determinada en frutas y verduras.

Valores en leche	Grupo1=0-129g (n=12)	Grupo2= 130-613g (n=12)	Significancia
Vitamina C (mg/ml)	43.92±19.15	44.68±26.20	0.937
CFT (mg AG/l)	51.11±24.01	57.47±27.98	0.556
DPPH (μ AA/ml)	10.00±2.16	9.75±3.97	0.850
FRAP(μ AA/ml)	3.82±.59	3.69±.54	0.584

CFT: compuestos fenólicos totales, AA: ácido ascórbico, AG: ácido gálico, FRAP y DPPH: Métodos para determinar capacidad antioxidante.

En la tabla anterior se sumaron las concentraciones de frutas y verduras en la cual se muestra que el grupo 1 (0 a 129 g) presenta mayor concentración de vitamina C y Compuestos fenólicos totales y el grupo 2 (130 a 613g) presenta mayores concentraciones en capacidad antioxidante por ambos métodos (DPPH y FRAP).

### **7.7 Determinación de la relación existente entre la concentración de vitamina C, compuestos fenólicos totales y capacidad antioxidante en leche materna por zonas, consumo del suplemento nutricional y el programa nutricional.**

En la tabla siguiente (Tabla 22) se muestra la diferencia entre la concentración de vitamina C, compuestos fenólicos totales y capacidad antioxidante entre la leche de las madres de zonas urbana y rural.

Tabla 22. Comparación del contenido de vitamina C, Compuestos fenólicos totales, capacidad antioxidante por los métodos DPPH y FRAP entre la leche de las madres que pertenecen a las zonas rural y urbana.

Parámetro estudiado en leche	Rural(n=18) Media y error típico	Urbana (n=6) Media y error típico	Significancia
Vitamina C (mg/ml)	45.98±5.73	39.27±6.67	0.460
CFT (mg AG/l)	52.54±5.34	59.54±14.44	0.664
DPPH (μ AA/ml)	10.36±0.67	8.43±1.5	0.280
FRAP (μ AA/ml)	3.7±0.118	3.8±0.315	0.853

CFT: compuestos fenólicos totales, AA: ácido ascórbico, AG: ácido gálico, FRAP y DPPH: Métodos para determinar capacidad antioxidante.

En esta tabla se muestra que los niveles de vitamina C y capacidad antioxidante por DPPH son mayores en la zona rural, aunque no presenta diferencia significativa. Y los niveles de Compuestos fenólicos totales y capacidad antioxidante por el método de FRAP son superiores en la zona urbana, aunque tampoco existe diferencia significativa.

En las siguientes tablas (Tabla 23 y 24) se muestra la diferencia en la concentración de vitamina C, compuestos fenólicos totales y la capacidad antioxidante entre la leche de las madres que cuentan con el programa oportunidades y/o consumen Nutrivida.

Tabla 23. Comparación del contenido de vitamina C, compuestos fenólicos totales y capacidad antioxidante entre la leche de las madres que cuentan con el programa oportunidades y las que no.

Parámetro estudiado en leche	Oportunidades (n=15)	No oportunidades (n=9)	Significancia
Vitamina C (mg/ml)	43.35±6.35	45.89±6.53	0.783
CFT (mg AG/l)	53.68±6.00	55.30±10.28	0.894
DPPH (μ AA/ml)	9.46±.95	10.57±.64	0.343
FRAP (μ AA/ml)	3.75±.17	3.76±.09	.978

CFT: compuestos fenólicos totales, AA: ácido ascórbico, AG: ácido gálico, FRAP y DPPH: Métodos para determinar capacidad antioxidante.

En esta tabla todos los parámetros evaluados son superiores en el grupo de madres que no cuenta con el programa oportunidades y no se encuentra ninguna diferencia significativa entre ambos grupos. En este parámetro es difícil hacer la comparación debido a que no se puede observar el impacto real del programa porque no se puede saber si el ingreso económico que reciben las madres es utilizado para el consumo diario de su dieta o si los alimentos que eligen son ricos en vitamina C u otros antioxidantes.

Tabla 24. Comparación del contenido de vitamina C, compuestos fenólicos totales, capacidad antioxidante entre la leche de las madres que consumen el suplemento NUTRIVIDA y las que no.

Parámetro estudiado en leche	NUTRIVIDA(n=17)	NO NUTRIVIDA (n=7)	Significancia
Vitamina C (mg/ml)	45.86±5.73	40.52±7.72	0.588
CFT (mg AG/l)	56.83±5.93	48.13±11.18	0.508
DPPH (mcg AA/ml)	10.75±.45	7.76±1.72	0.138
FRAP (mcg AA/ml)	3.77±.12	3.74±.27	0.923

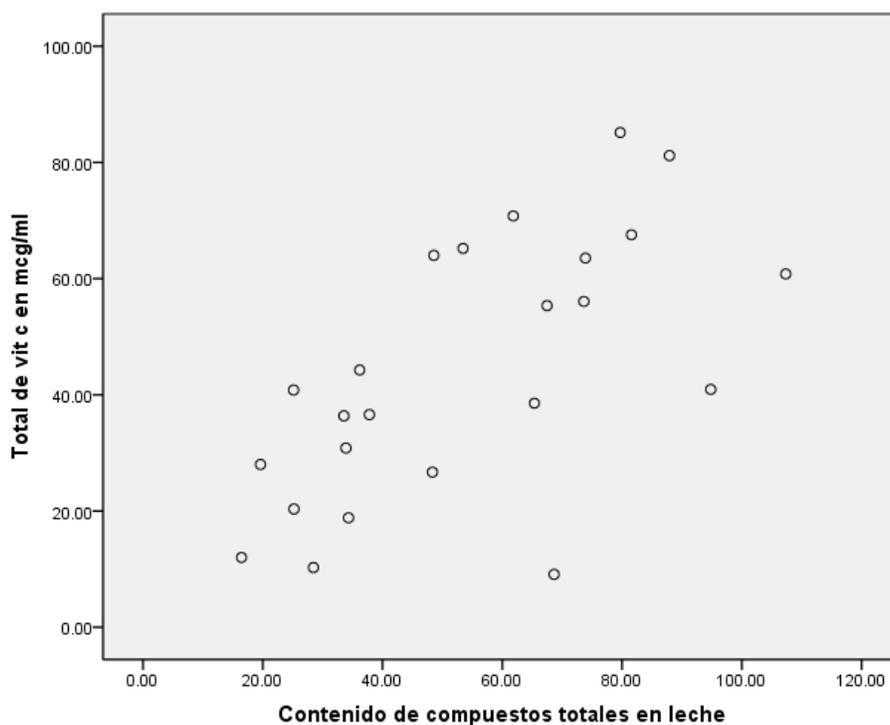
CFT: compuestos fenólicos totales, AA: ácido ascórbico, AG: ácido gálico, FRAP y DPPH: Métodos para determinar capacidad antioxidante.

En cuanto a los resultados de acuerdo al consumo del suplemento NUTRIVIDA, se presenta una tendencia en concentraciones superiores en las madres que consumen el suplemento, pero no existe diferencia significativa, indicando que posiblemente no hay un efecto en la concentración de vitamina C en la leche de las madres participantes.

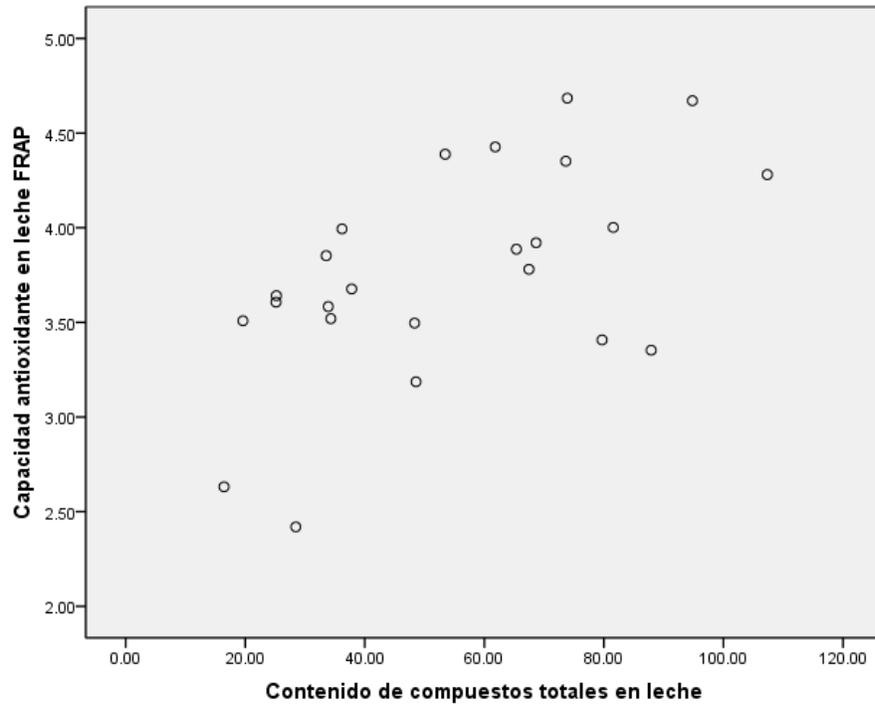
### 7.8 Determinación de las correlaciones existentes entre capacidad antioxidante vitamina C y compuestos fenólicos totales.

Se realizaron correlaciones entre vitamina C, compuestos fenólicos totales y capacidad antioxidante por los métodos de FRAP y DPPH.

La concentración de vitamina C es directamente proporcional a la cantidad de compuestos fenólicos totales presentes en leche materna.  $R=0.644$   $p=0.001$



La cantidad de compuestos fenólicos totales es directamente proporcional a la capacidad antioxidante por el método de FRAP.  $R=0.599$   $p=0.004$



La capacidad antioxidante por el método de FRAP es directamente proporcional a la reportada por el método de DPPH.  $R=0.606$   $p=0.002$

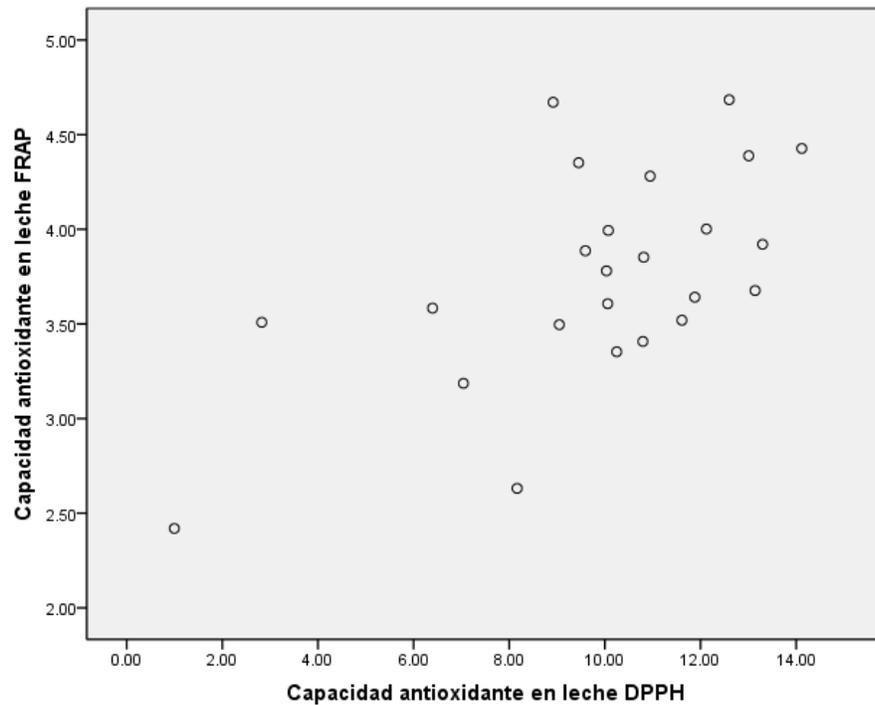


Tabla 25. Correlaciones de Pearson entre las distintas variables estudiadas.

Variables correlacionadas	Correlación de Pearson	
	R	Significancia
VIT C-CFT	0.644**	0.001
VITC-FRAP	0.422*	0.40
VITC-DPPH	0.361	0.083
CFT-FRAP	0.599**	0.004
CFT-DPPH	0.374	0.072
FRAP-DPPH	0.606**	0.002

## VIII. DISCUSIONES GENERALES

La determinación de Vitamina C en leche materna es un gran reto, debido a la heterogeneidad de las muestras y el alto grado de degradación de esta vitamina durante el almacenamiento y análisis. (Rogers 2013)

Además el ácido ascórbico se oxida rápidamente a ácido dehidroascórbico, y su oxidación puede inducirse por la exposición a altas temperaturas y pH, luz, presencia de oxígeno y metales (Fe, Ag, Cu) y acción enzimática. (Lee and Kader 2000)

Las muestras de leche analizadas de las madres lactantes se cuidaron de no estar expuestas a factores de degradación como son la luz, temperatura de almacenamiento y descongelación y pH.

El ácido ascórbico está presente naturalmente en la mayoría de las frutas y verduras, pero los humanos somos incapaces de sintetizarla. La ingesta diaria recomendada es de 75 y 90 mg/día para mujeres y hombres adultos respectivamente. (Eitenmiller, Ye, and Landen Jr 2008)

En México, en cuanto a las mujeres en edad reproductiva (12 a 49 años), la prevalencia de deficiencia es muy alta tanto en embarazadas como en no embarazadas, cerca de la mitad tiene algún grado de deficiencia, esta prevalencia tiende a ser mayor en las embarazadas de las localidades rurales que en las urbanas, aunque en las no embarazadas no se encuentra diferencia. La región norte fue en donde se encontró la prevalencia más alta de esta deficiencia. (Bourges, Casanueva, and Rosado 2008)

La población estudiada tuvo un consumo nulo o inferior a la ingesta diaria recomendada de frutas y verduras de acuerdo a las tablas de ingestión recomendada por el Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán de energía, proteína, vitaminas y minerales para la población Mexicana. Aunado a esto la mayor parte de la población pertenece a zonas rurales y tienen un ingreso mensual por debajo del promedio.

El suplemento nutritivo es ofrecido a las madres como parte del programa oportunidades, está indicado para mujeres embarazadas o en periodo de lactancia hasta por un año, una tableta al día. Este suplemento en su información nutrimental dice contener 100,0 mg de vitamina C. (Salud 2014)

Al hacer una comparación entre las madres que consumieron nutritivo con las que no lo hicieron, en relación al contenido de vitamina C en la leche materna, no se presentó diferencia significativa.

La leche materna es la fuente de antioxidantes en el neonato. En la leche materna se han reportado antioxidantes endógenos, los cuales están divididos en antioxidantes enzimáticos y no enzimáticos. Los enzimáticos incluyen glutatión peroxidasa, catalasa, superóxido dismutasa, etc. Y los no enzimáticos la vitamina E, retinol, vitamina C, beta caroteno, isoflavonoides, selenio, caseína, etc.

La vitamina C en leche materna ayuda a mantener una barrera natural contra infecciones, estimula a los leucocitos para sus actividades fagocíticas y antimicrobiales, aumenta la producción de anticuerpos y síntesis de interferón. (Hoppu et al. 2005) La vitamina C junto con otros antioxidantes de la leche previene y reduce el daño oxidativo en varios tejidos en el neonato.

En este estudio se realizó el estudio del contenido de Vitamina C, capacidad antioxidante por dos métodos; DPPH y FRAP, así como el contenido de compuestos fenólicos totales. Estos se compararon entre si para determinar si existe algún nivel de significancia.

## **IX. CONCLUSIONES**

Más de la mitad de la población estudiada pertenece a la zona rural (75%), el 62% contaba con el programa Oportunidades y el 70.8% del total consumían el suplemento NUTRIVIDA.

La población estudiada presenta un consumo promedio ( $204.65 \pm 32.04$ g/día) de frutas y verduras muy por debajo del consumo mínimo recomendado por la FAO y la OMS (400g/día).

No se encontró ninguna diferencia significativa respecto al consumo del suplemento nutritivo y el contenido de vitamina C en leche, entre las mujeres de las distintas zonas (rural y urbana) y entre las que cuentan o no con el programa oportunidades.

De acuerdo al consumo de frutas y verduras en gramos según el recordatorio de 24 hrs no existe diferencia significativa entre su concentración de vitamina C, CFT y CA en leche materna en los dos grupos (1=0-176g) (2=177-658).

Según el contenido de vitamina C en frutas y verduras estimado de acuerdo al recordatorio de 24 hrs no existe diferencia significativa entre las concentraciones de vitamina C, CFT y CA en leche entre ambos grupos. (1=0-129g) (2=130-613g).

Tampoco existe diferencia significativa en cuanto al contenido de vitamina C, CFT y CA en leche materna entre las zonas estudiadas y los que cuentan o no con el programa oportunidades.

## X. REFERENCIAS

- Aycicek, A, O Erel, O Kocyigit, S Selek, and M.R. Demirkol. 2006. "Breast milk provides better antioxidant power than does formula." *Nutrition* 22(616-619).
- Badrakham, C.D, F Petrat, M Holzhauser, A Fushs, E.E Lomonosova, de H. Groot, and M. Kirsch. 2004. "Methods 58." *J. Biochem. Biophys* 207.
- Basil, A, S Soulet, N Chaher, and et al. 2012. "Wine polyphenols: potential agents in neuroprotection." *Oxid.Med. Cell. Longev.*
- Beta, T, S Nam, JE Dexter, and HD. Sapirstein. 2005. "Phenolic content and antioxidant activity of pearled wheat and roller mill fractions." *Cereal Chem.* 82(390-3).
- Board, Food a. N. 1998. "Ingestión diaria recomendada e ingestión diaria sugerida." Academia Nacional de Ciencias de los Estados Unidos.
- Borges, H, E Casanueva, and J. Rosado 2005. "Vitaminas." in *Recomendaciones de Ingestión de Nutrimientos para la Población Mexicana*. Panamericana.
- Boskovic R, Gargaun L. O. D. D. J. a. K. G. 2005. "Pregnancy outcome following high doses of Vitamin E supplementation." *Reproductive Toxicology* (20).
- Bourges, H, E Casanueva, and J.L. Rosado. 2008. *Recomendaciones de Ingestión de Nutrimientos para la Población Mexicana*. primera ed. Buenos Aires: Panamericana.
- Brand-Williams, W, ME Cuvelier, and C. Berset. 1995. "Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity." *Lebensm Wiss Technol* 28(25-30).
- C., Debier. 2007. "Vitamin E during pre- and postnatal periods." *Vitam Horm* (76).
- Cambell, M.K. and S.O. Farrell. 2004. *Bioquímica*. Cuarta Edición ed. México, DF: Thomson Internacional.
- Castañeda, C, LI Ramos, and V. Ibañez. 2008. "Evaluación de la capacidad antioxidante de siete plantas medicinales peruanas." *Revista Horizonte Médico* 8(1).
- Chavéz-Servín J, Castellote A. L.-S. C. 2006. "Simultaneous analysis of vitamina A and E in infant milk based formulae by normal-phase high performance liquid chromatography-diode array detection using a short narrow- bore column." *Journal of Chromatography* 1122.
- Coba, P, M.T. Lee, and V. Geovanni. 2010. "Importancia de la actividad antioxidante y evaluación de extractos en etanol del género *Oryctanthus*." *La Granja, Universidad Politécnica Salesiana, Ecuador*. 2(1).
- De Azeredo, VB and NM. Trugo. 2008. "Retinol, carotenoids, and tocopherols in the milk of lactating adolescents and relationships with plasma concentrations." *Nutrition* 24(133-9).
- de Azeredo, V.B. and N.M. Trugo. 2008. "Retinol, carotenoids, and tocopherols in the milk of lactating adolescents and relationships with plasma concentrations." *Nutrition* 24(133-139).
- Decker, E.A. 1997. "Pehenolics: prooxidants or antioxidants?" *Nutritional Reviews* 55(296-398).

- Eitenmiller, R.R, L Ye, and W.O. Landen Jr 2008. "Vitamin Analysis for the health and Food Sciences." in *CRC Press*. Boca Raton.
- Emmett P, Rogers I. 1997. "Properties of human milk and their relationship with maternal nutrition." *Elsevier. Early Human Development* (49).
- Emmett, P.M. and I.S. Rogers. 1997. "Properties of human milk and their relationship with maternal nutrition." *Early Human Development* 49.
- Ettyang, G.A., W.D. van Marken Lichtenbelt, F Esamai, W.H. Saris, and K.R. Westerterp. 2005. "Assessment of body composition and breast milk volume in lactating mothers in pastoral communities in Pokot, Kenya, using deuterium oxide." *Ann Nutr Metab* 49(110-117).
- Ettyang, GA, WD Van Marken-Lichtenbelt, and et al. 2005. "Assesment of body composition and breast milk volume in lactating mothers in pastoral communities in Pokot, Kenya, using deuterium oxide." *Ann Nutr Metab* 49(110-7).
- Friel, J.K, R.W Friesen, S.V Harding, and L.J. Roberts. 2004. "Evidence of oxidative stress in full-term healthy infants." *Pediatr Res* 56(878-882).
- Friel, JK, SM. Martin, M. Langdon, GR. Herzberg, and GR. Buettner. 2002. "Milk from mothers of both premature and full-term infants provides better antioxidant protection than does infant formulas." *Pediatr.Res* 5(51):612-618.
- García-López, R. 2011. "Composición e inmunología de la leche humana." *Acta Pediatrica de México* 32(223-230).
- Gross, R, W Hansel, R Schultink, R Shrimpton, R Matulesi, and et a. Gross. 1998. "Moderate zinc and vitamin A deficiency in breast milk of mothers from East-Jakarta." *Eur. J. Clin.Nutr* 52(884-890):884-890.
- Hanhineva, K, R Torrenen, I Bondia-Pons, and et al. 2010. "Impact of dietary polyphenols on carbohydrate metabolism." *Int. J.Mol. Sc* 11(1365-1402).
- Hanna, N., A. K. . A. M. . P. A. . H. M. . & H. T. 2004. "Effect of storage on breast milk antioxidant activity." *Archives of Disease in Childhood. Fetal and Neonatal Edition* 89(F518-F520).
- Harunobu, A, S Buxiang, and B. Carmia. 2009. "Lyciumbarbarum (goji) juice improves in vivo antioxidant biomarkers in serm of healthy adults." *Nutrition Research* 29(1).
- Hernández-Aguilar, M.T., A Muñoz-Guillén, and J.J. Lasarte-Velillas. 2004. "La lactancia materna en la Comunidad Valenciana. Análisis multivalente de una encuesta a 6.400 lactantes." *Rev.Pediatr Aten Primaria* 6(19-37).
- Hoffman, U.R. 2000. "Essential fat requirements of preterm infants." *Am J Clin Nutr* 71(245-250).
- Hollman, P. 2004. "Absorption, Bioavailability and Metabolism of Flavonoids." *Pharmaceutical Biology* 42(74-83).
- Hoppu, U, M Rinne, P Salo-Vaananen, A.M. Lampi, V Piironen, and E. Isolauri. 2005. "Vitamin C in breast milk may reduce the risk of atopy in the infant." *Eur J Clin Nutr* 59(128-8).

- Jelliffe, DB and EF. Jellife. 1978. "Volume and composition of human milk in poorly nourished communities." *Am J Clin Nutr* 31(492-515).
- Krause, M.A. 1995. *Nutrición y dietoterapia*. 8<sup>th</sup> ed. México, DF: Mc Graw-Hill.
- Kunz, C, M Rodriguez.Palmero, B Koletzko, and et al. 1999. "Nutritional and biochemical properties of human milk, part I: general aspects, proteins and carbohydrates." *Clin Perinatol* 26(307-333).
- Lammi-Keefe, J and R. Jensen. 1984. "Fat-Soluble Vitamins in Human Milk." *Nutrition Reviews* 43(365).
- Lawrence, RA. 1994. Pp. 102-107 in *Breastfeeding a guide for the medical profession*. St. Louis, Mosby: ELSEVIER.
- Lawrence, RA, L. R. 2007. "Breastfeeding." Pp. 277-81 in *A Guide for the Medical Profession*. Elsevier Mosby.
- Lee, S.K. and A.A. Kader. 2000. "Preharvest and postharvest factors influencing vitamin C content of horticultural crops." *Postharvest Biol. Tec* 20(207-220).
- Li, W, FS Hosseinian, A Tsopmo, JK Friel, and T. Beta. 2009. "Evaluation of antioxidant capacity and aroma quality of breast milk." *Nutrition* 25(1'5-114).
- Li, W, CV Wei, PJ White, and T. Beta. 2007. "High-amylose corn exhibits better antioxidant activity than typical and waxy genotypes." *J.Agric Food Chem* 55(291-8).
- López, J. 2008. "Los alimentos Funcionales: importancia y Aplicaciones." Escuela Agrícola Panamericana Zamorano., Chile.
- López-García, R. 2011. "Composición e inmunología de la leche humana." *Acta Pediatrica de México* 32(223-230).
- Macías, S.M., S Rodríguez, and P. Ronayne. 2006. "Leche materna: composición y factores condicionantes de la lactancia." *Arch Argent Pediatr* 104(423-430).
- Macias, C and F.J. Schweigert. 2001. "Changes in the concentration of carotenoids, vitamin A, alpha-tocopherol and total lipids in human milk throughout early lactation." *Ann Nutr Metab* 45(82-85).
- Macias, C and FJ. Schweigert. 2001. "Changes in the Concentration of Carotenoids, Vitamina A, Alpha-Tocopherol and Total Lipids in Human Milk throughout Early Lactation." *Annals of Nutrition and Metabolism* 45(82-85).
- Marketa, K, P Jiri, S Dagmar, K Lenka, and K. Barbora. 2012. "Rapid sample preparation procedure for determination of retinol and alfa tocoferol in human breast milk." *Talanta* 93(147-152).
- Martínez-Valverde, I, M.J. Periago, and G. Ros. 2000. "Significado nutricional de los compuestos fenólicos de la dieta." *Archivos Latinoamericanos de Nutrición* 50.
- Mataix J, López-Frías M. 2008. *Lactación. En: Nutrición y Alimentación Humana*. 2<sup>nd</sup> ed. Madrid: Ergón.
- Mello-Neto, J, P Rondó, M Oshiiwa, and M. Morgano. 2009. "The influence of maternal factors on the concentration of vitamin A in mature breast milk." *Clinical Nutrition* 28(178-181).
- Mena, P and M. Milad. 1998. "Variaciones en la composición nutricional de la leche materna. Algunos aspectos de importancia clínica." *Rev Chil Pediatr* 69(116-121).

- Muñoz- Jáuregui, A.M. 2007. "Componentes fenólicos de la dieta y sus propiedades biomedicinales." *Revista Horizonte Médico* 7(23-31).
- Ochoa, JJ. e. a. 2003. "Oxidative stress in erythrocytes from prematures and full-term infants during their first 72h of life." *Free. Radic. Res* 3(37).
- Ochoa, JJ., MC. Ramírez, JL. Quiles, N. Palomino, R. Robles, J. Mataix, and Huertas. JR. 2003. "Oxidative stress in erythrocytes from prematures and full-term infants during their first 72h of life." *Free.Radic. Res.* 3(37):317-322.
- Olson, J.A. 1996. "Vitamina A." Pp. 109-119 in *Present knowledge in nutrition*. Washington,DC: ILSI Press.
- Perez-Vizcaino, F, J Duarte, R Jimenez, C Santos-Buelga, and A. Osuna. 2009. "Antihypertensive effects of flavonoid quercetin." *Pharmacol Rep* 61(67-75).
- Pineiro-Mendez, Z. 2005. "Desarrollo de nuevos métodos de extracción para el análisis de compuestos de interés enológico." Universidad de Cadiz.
- Posada-Jaramillo, M, V Pineda-Salinas, and G.M. Agudelo-Ochoa 2003. "Los antioxidantes de los alimentos y su relación con las enfermedades crónicas."
- Prentice, A. 1995. "Regional variations in the composition of human milk." Pp. 115-221 in *Handbook of milk composition*. San Diego: Academic Press.
- Quesada, J.M., J.M. Mata-Granados, and M.D. Luque. 2004. "Automated method for the determination of fat-soluble vitamins in serum." *J. Steroid Biochem.Mol.Biol* (89).
- Ramirez-Silva, I, J Rivera, X Ponce, and M. Hernández. 2009. "Consumo de frutas y verduras en la población mexicana." *Salud pública Mex.* 51(s574-s585).
- Rodriguez-Palmero, M, B Koletzko, C Kunz, and et al. 1999. "Nutritional and biochemical properties of human milk, part II: lipids, micronutrients and bioactive factors." *Clin Perinatol* 26(335-359).
- Rogers, H.A. 2013. "How composition methods are developed and validated." *J. Agric. Food. Chem.* 61(8312-8316).
- Romero-Alvira, C. and F. González Martínez. 1992. "Estrés oxidativo y su relación con la patología pediátrica." *An.Esp. Pediatr.* 2(36):85-97.
- Romeu-Nadal, M, A.I Castellote, and M.C. López-Sabater. 2008. "Effect of cold storage on vitamins C and E and fatty acids in human milk." *Food Chemistry* 106(65-70).
- Romeu-Nadal, M, S Morena-Pons, A Castellote, and M. López- Sabater. 2006. "Rapid high- performance liquid chromatographic method for Vitamin C determination in human milk versus an enzymatic method." *Journal of Chromatography* (41-46).
- Ronayne de Ferrer, PA and ME. Sambucetti. 1993. "Casein to whey protein ratio in rat and human milks: effect of maternal protein intake." *J Dairy Sci* 76(1645-1653).
- Salud, Secretaria d. 2014. "Manual para el Suministro y Control del Suplemento Alimenticio."

- Schroeter, H, C Heiss, J Balzer, P Kleinbongard, CI Keen, and et al. 2006. "Epicatechin mediates beneficial effects of flavanol-rich cocoa on vascular function in humans." *Proc Natl Acad Sci* 103(1024-1029).
- Shahidi, F and M. Naczki 2004. "Phenolics in food and nutraceutical." Pp. 1-16 in *CRC Press*. Londres.
- Shoji, H, T Shimizu, K Shinohara, S Oguchi, S Shiga, and Y. Yamashiro. 2004. "Suppressive effects of breast milk on oxidative DNA damage in a very low birthweight infants." *Arch Dis Child Fetal Neonatal* 89(136-138).
- Silvestre, D, M Miranda, M Muriach, and et al. 2008. "Antioxidant capacity of human milk: effect of thermal conditions for the pasteurization." *Acta Paediatr.* 97(1070-1074).
- Sommerburg K, Meissner M. N. H. L. M. e. a. 2000. "Carotenoid supply in breast-fed and formula-fed neonates." *European Journal of Pediatrics* (159).
- Soto-Vaca, A, A Gutierrez, JN Losso, Z Xu, and JW. Finley. 2012. "Evolution of Phenolic Compounds from Color and Flavor Problems to Health Benefits." *Agric Food Chem.*
- Spínola, V, Llorent-Martínez E, and P. Castiljo. 2014. "Determination of vitamin C in foods: Current state of method validation." *Journal of Chromatography A.*
- Suzanne, G, A Bendich, V Singh, and L. Machlin. 1991. *Vitamin intake and health: a scientific review*. Nueva York: Marcel Dekker.
- Tijerina-Saenz, A, SM Innis, and DD. Kitts. 2009. "Antioxidant capacity of human milk and its association with vitamins A and E and fatty acid composition." *Acta Paediatr.* 9(1793-1798).
- Traber M. G., Erdman J. W. . M. I. A. . Z. S. H. 2012. "Present knowledge in nutrition." Pp. 214-229 in *Vitamina E*. Washington, DC: ILSI Press.
- Van Zoeren-Grobbe D, Moison R. M. . E. W. M. . B. H. M. 1993. "Lipid peroxidation in human milk and infant formula: effect of storage, tube feeding and exposure to phototherapy." *Acta Paediatr* (82).
- van Zoeren-Grobbe, D, J.H Lindeman, E Houdkamp, R Brand, J Schrijer, and Berger.H.M. 1994. "Postnatal changes in plasma chain-breaking antioxidants in healthy preterm infants fed formula and/or human milk." *Am J Clin Nutr* 60(900-906).
- Vattem, D.A, R Ghaedian, and K. Shetty. 2005. "Enhancing health benefits of berries through phenolic antioxidant enrichment: focus on cranberry." *Asia Pac J Clin Nutr.* 14(120-130).
- Vesna, M. 2000. "Antioxidant capacity of breast milk taken by patients with kwashiorkor." University of Aberdeen.
- Wu, B, K Kulkarni, S Basu, S Zhang, and M. Hu. 2011. "First-pass metabolism via UDP-glucuronosyltransferase: a barrier to oral bioavailability of phenolics." *Pharm. Sci.* 100(3655-3688).

## XI ANEXOS

### ANEXO 1 CUESTIONARIO DE SELECCIÓN

Nombre de la madre: \_\_\_\_\_

Folio: \_\_\_\_\_ Expediente: \_\_\_\_\_

Edad: \_\_\_\_\_ Semanas de gestación de último embarazo \_\_\_\_\_

#### Actualmente ¿qué alimentación le ofrece a su hijo?

- a) Lactancia materna Desde cuando \_\_\_\_\_ meses. Frecuencia \_\_\_\_\_  
No \_\_\_\_\_
- b) Alimentación mixta. Lactancia materna Desde cuando \_\_\_\_\_ meses  
Fórmula infantil. Desde cuando \_\_\_\_\_ meses  
Otras bebidas (agua, té, etc). Desde cuando \_\_\_\_\_ meses
- c) Fórmula infantil. Desde cuando \_\_\_\_\_ meses  
Etapa: \_\_\_\_\_

~~Durante el embarazo o actualmente le han diagnosticado alguno de los siguientes padecimientos:~~

Diabetes gestacional.	Si	No
Hipotiroidismo.	Si	No
Obesidad mórbida.	Si	No
Rubéola.	Si	No
Pre-eclampsia.	Si	No
Hipertensión arterial.	Si	No
Toxoplasmosis.	Si	No
Enfermedades de transmisión sexual.	Si	No
Varicela.	Si	No
Estreptococo grupo B.	Si	No
Enfermedades cardíaca o renal.	Si	No
Depresión con medicación.	Si	No
Durante el embarazo o lactancia hayan consumido alguna sustancia nociva (alcohol, cigarrillos, drogas)	Si	No
Durante los últimos tres meses hayan estado tomando algún medicamento como:  <b>Antibióticos</b> (tetraciclinas, aminoglúsidos, cloranfenicol).....  <b>Antihipertensivos</b> (antagonistas de calcio, bloqueadores $\beta$ -adrenérgicos, diltiazem,	Si	No

hidralazina, metildopa, nicardipino, nifedipino, nitroprusiato sódico, verapamilo).....	Si	No
<b>Antivirales</b> (aciclovir, amantadina, didanosina, estavudina, idoxiuridina, trifluridina, vidarabina, zalcitabina, zidovudina).....	Si	No
<b>Antimicóticos</b> (amfotericina B, butoconazol, clotrimazol, fluconazol, itraconazol, miconazol, nistatina).....	Si	No
<b>Antiparasitarios</b> (espiramicina, lindano, mebendazol, metronidazol, pirametamina, tiabendazol).....	Si	No
<b>Antidepresivos</b> (benzodiazepinas, diazepam, fluoxetina, sertralina, haloperidol, tricíclicos, clorpromazina, bupropión).....	Si	No
<b>Antineoplásicos</b> (ciclofosfamida, metotrexato, aminopterina).....	Si	No
<b>Antieméticos</b> (ondansetron, metoclopramida, meciclina, buclicina, dimenhidrato).....	Si	No
<b>Fármacos cardiovasculares</b> (adenosina, amiodarona, bloqueadores $\beta$ -adrenérgicos, digoxina, Inhibidores de la conversión de la antiotensina (IECA), diltiazem).....	Si	No
Durante los últimos tres meses ha recibido algún tratamiento hormonal.	Si	No
Ha tomado algún tipo de suplemento comercial (Herbalife, omnilife etc).	Si	No
Desea participar en el estudio	Si	No

## ANEXO 2

### CONSENTIMIENTO INFORMADO

Fecha \_\_\_\_ \_

Número de expediente \_\_\_\_\_



## *Universidad Autónoma de Querétaro, Facultad de Ciencias Naturales, Escuela de Nutrición.*



### **Consentimiento informado para participar en un estudio de investigación titulado:**

**CONTENIDO DE COMPUESTOS FENÓLICOS Y CAPACIDAD ANTIOXIDANTE EN  
LECHE MATERNA DE MUJERES QUE CUENTAN CON EL PROGRAMA DE  
OPORTUNIDADES.**

Investigador principal: Dra. Karina de la Torre Carbot.

Sede donde se realizará el estudio: Centro de Atención Integral en Servicios Esenciales en Salud (CAISES), San Luis de la Paz, Gto. SSA y Facultad de Ciencias Naturales UAQ.

Nombre del paciente: \_\_\_\_\_

A usted se le está invitando a participar en este estudio de investigación. Antes de decidir si participa o no, debe conocer y comprender cada uno de los siguientes apartados. Este proceso se conoce como consentimiento informado. Siéntase con la absoluta libertad para preguntar sobre cualquier aspecto que le ayude a aclarar sus dudas al respecto.

Una vez que haya comprendido el estudio y si usted desea participar, entonces se le pedirá que firme esta forma de consentimiento, de la cual se le entregará una copia con firma y fecha.

### **1. JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO.**

En este estudio se evaluarán algunos componentes importantes de la leche que sirven para nutrir a su bebé. En específico estudiaremos algunas sustancias antioxidantes (compuestos fenólicos), ya que estos compuestos pueden estar relacionados de manera importante con el crecimiento, desarrollo y salud de su bebé. También se evaluará la capacidad antioxidante de la leche, ya que este aspecto tiene relación con la calidad de su leche y el grado de protección que le puede dar a su bebé.

## **2. OBJETIVO DEL ESTUDIO**

A usted se le está invitando a participar en un estudio de investigación que tiene como objetivo: Determinar el contenido de compuestos antioxidantes y capacidad antioxidante de madres que cuentan con el programa Oportunidades y aquellas que no cuentan con este programa.

## **3. BENEFICIOS DEL ESTUDIO**

Este estudio permitirá saber si el programa oportunidades tiene un impacto positivo en la calidad de su leche, usted ayudará a que en un futuro otros pacientes puedan beneficiarse del conocimiento obtenido.

Si usted lo desea, tiene la opción de recibir asesoría en nutrición y alimentación para usted y su bebé con personal del CAISES.

## **4. PROCEDIMIENTOS DEL ESTUDIO**

En caso de aceptar participar en el estudio se le aplicara un cuestionario de datos personales y se le realizara una historia clínica, se le pesará y medirá; y se le realizarán dos cuestionarios donde se le preguntará lo que consumió 24 horas antes de la consulta, y se le aplicara un cuestionario de frecuencia de alimentos con referente al consumo habitual de alimentos que usted consume. A las mujeres que cuenten con el programa oportunidades se les hará un cuestionario de apego sobre el suplemento que bimensualmente se le ha proporcionado.

Posterior a esto se solicitará la extracción de leche materna de 40 ml. La toma de la muestra se realizará en el consultorio de Nutrición en el CAISES y como primera opción se le solicitará a la madre que extraiga la leche materna de forma manual de acuerdo a los lineamientos de la Organización Mundial de la Salud (OMS).

En caso de que no pueda extraerse la leche materna se podrá utilizar un extractor eléctrico. Si requiere de ayuda para usar el extractor, una nutrióloga calificada del CAISES puede asesorarle cómo hacerlo. Si usted lo desea, la nutrióloga puede ayudarle a usar el aparato: la nutrióloga le colocará la copa de succión del extractor, en modalidad apagado, en uno de sus senos. Posteriormente se encenderá para iniciar la fase de estimulación aumentando paulatinamente la frecuencia de succión a una intensidad muy leve durante 2 minutos aproximadamente, a menos que su leche baje antes de haber cumplido los 2 minutos. Una vez que comience a fluir la leche, se podrá avanzar a la fase de extracción. Al presionar el botón de extracción, se iniciará esta fase, ajustando la frecuencia e intensidad de succión para su comodidad. Una vez obtenida la muestra (40 ml) se apagará el extractor, aún colocado en su seno. Para retirar la copa de succión sin molestias, se asegurará de que no haya succión en el pezón en ese momento.

Mientras se obtiene la muestra de leche, usted puede alimenta a su bebé con el otro seno.

Se estima que esta primera cita tenga una duración aproximada de una hora.

La muestra se almacenará en un congelador hasta su análisis. Si la muestra no se utilizara para estudiar compuestos fenólicos y/o la capacidad antioxidante por alguna razón o hubiera algún sobrante de leche, podría utilizarse para estudiar otros compuestos importantes de la leche, pero todo estudio se llevará a cabo exclusivamente para análisis en relación a su composición nutrimental.

Es probable que usted sienta alguna molestia leve, o es posible que note inflamación o enrojecimiento pasajero de las mamas, sin embargo esto no representa un riesgo a su salud, no obstante en caso de ser necesario se le canalizará con su médico familiar. También es posible que posterior a la donación de leche, su bebé tenga la necesidad de succionar más tiempo del acostumbrado para obtener la porción habitual de leche que consume.

Posteriormente se le citará en una ocasión más para cumplimentar un recordatorio de 24 horas y si así lo desea, asesorarla en relación a su alimentación y a la alimentación de su bebé. Se estima que esta segunda cita tenga una duración aproximada de una hora.

## **5. ACLARACIONES**

- Su decisión de participar en el estudio es completamente voluntaria.
- Las consultas se realizarán en un horario de 7 a 14 hrs.
- No habrá ninguna consecuencia desfavorable para usted, en caso de no aceptar la invitación.
- Si decide participar en el estudio puede retirarse en el momento que lo desee, aun cuando el investigador responsable no se lo solicite, pudiendo informar o no, las razones de su decisión, la cual será respetada en su integridad.
- No tendrá que hacer gasto alguno durante el estudio.
- No recibirá pago por su participación.
- En el transcurso del estudio usted podrá solicitar información actualizada sobre el mismo, al investigador responsable al teléfono: 192 12 00 ext. 5351 con la Dra. Karina de la Torre Carbot.
- La información obtenida en este estudio, utilizada para la identificación de cada paciente, será mantenida con estricta confidencialidad por el grupo de investigadores.
- Usted también tiene acceso al Comité de Investigación y Posgrado de la Facultad de Ciencias Naturales al teléfono 192 12 00 ext. 5347 con el Dr. Germinal Jorge Cantó Alarcón y al Comité de Bioética de la misma Facultad al teléfono: 192 12 00 ext. 5321 con la Dra. Olga Patricia García Obregón. en caso de que tenga dudas sobre sus derechos como participante,

- Si considera que no hay dudas ni preguntas acerca de su participación, puede, si así lo desea, firmar la Carta de Consentimiento Informado que forma parte de este documento.

## 6. CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

Yo, \_\_\_\_\_ he leído y comprendido la información anterior y mis preguntas han sido respondidas de manera satisfactoria. He sido informada y entiendo que los datos obtenidos en el estudio pueden ser publicados o difundidos con fines científicos. Estoy de acuerdo en participar en este estudio de investigación. Recibiré una copia firmada y fechada de esta forma de consentimiento.

\_\_\_\_\_  
**Nombre y firma del participante**

\_\_\_\_\_  
**Fecha**

\_\_\_\_\_  
**Testigo 1**

\_\_\_\_\_  
**Fecha**

\_\_\_\_\_  
**Testigo 2**

\_\_\_\_\_  
**Fecha**

He explicado a la Sra. \_\_\_\_\_ la naturaleza y los propósitos de la investigación; le he explicado acerca de los riesgos y beneficios que implica su participación. He contestado a las preguntas en la medida de lo posible y he preguntado si tiene alguna duda. Acepto que he leído y conozco la normatividad correspondiente para realizar investigación con seres humanos y me apego a ella.

Una vez concluida la sesión de preguntas y respuestas, se procedió a firmar el presente documento.

\_\_\_\_\_  
**Firma del investigador**

\_\_\_\_\_  
**Fecha**

**ANEXO 3  
HISTORIA CLÍNICA**

No. de folio. \_\_\_\_\_  
 Nombre: \_\_\_\_\_  
 Expediente: \_\_\_\_\_  
 Domicilio: \_\_\_\_\_  
 Edad: \_\_\_\_\_  
 Fecha de parto: \_\_\_\_\_

**Antecedentes heredofamiliares AHF**

	SI (1)	NO(2)
DIBÉTICOS		
HIPERTENSOS		
NEOPLÁSICOS		
OTROS		

**Antecedentes personales patológicos APP**

	SI (1)	NO(2)
DIBÉTICOS		
HIPERTENSOS		
NEOPLÁSICOS		
ALÉRGICOS		
QUIRÚRGICOS		
OTROS		

**Antecedentes Ginecoobstétricos AGO**

GESTA	
PARA	
ABORTO	
CESAREA	
PERIODO INTERGANESICO	

**ANTROPOMETRIA.**

PESO PREGESTACIONAL	
PESO ACTUAL	
TALLA	
GANANCIA DE PESO DURANTE EL EMBARAZO	
IMC ACTUAL	
IMC PREGESTACIONAL	

## ANEXO 4

### ESTUDIO SOCIOECONÓMICO CORTO

1. **Cuenta con el programa oportunidades.** . 1. Si 2. No

2. **Motivo por el cual acude a la unidad de salud.**

1. Consulta, 2. Referencia, 3. Urgencias.

3. **Derechohabiencia**

1. IMSS, 2. ISSSTE, 3. PEMEX, 4. SDN, 5. SEGURO POPULAL, 6. SIN SEGURIDAD.

4. **Escolaridad**

(1) NINGUNO

(2) MENOS DE 3 AÑOS.

(3) DE 3-5 AÑOS DE PRIMARIA

(4) PRIMARIA COMPLETA

(5) SECUNDARIA COMPLETA

(6) SECUNDARIA INCOMPLETA

(7) BACHILLERATO O TECNICO COMPLETO

(8) PROFESIONAL

(9) OTRO

5. **¿Cuántas personas viven en su casa?**

1. 8 o más

2. 5 a 7

3. 3 a 4

0. 1 a 2

6. **¿Cuántas personas dependen del ingreso familiar?**

1. 8 o más

2. 5 a 7

3. 3 a 4

0. 1 a 2, adulto mayor, discapacitado.

7. **Economía familiar (padre, madre, hijos; otros)**

1. Sin salario

2. Menos o igua a \$ 2.000.00

3. \$2.001.00 a \$3.000.00

4. \$3.001.00 a \$ 4.000.00

5. \$4.001.00 a \$ 5.000.00

6. \$5.001.00 a \$ 6.000.

**8. Vivienda**

1. Prestada 2. Rentada 3. Propia.

**ANEXO 5**

**Apego al SUPLEMENTO NUTRIVIDA**

Fecha: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

**¿Cuántas pastillas debió tomarse?**

**¿Cuántas pastillas se tomó?**

**Porcentaje de apego al tratamiento:** \_\_\_\_\_

La adherencia resultante se encuentra dentro de un rango >90% 0. SI ( ) 1. NO ( )

**El sujeto entregó los pastillas vacíos:** 0. SI ( ) 1. NO ( )

**¿Cuántas pastillas vacías entregó?** \_\_\_\_\_

**Observaciones:**

---

---

---

**Aplicó:** \_\_\_\_\_

**Fecha de verificado:** \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_





**ANEXO 7**

**MUESTRA DE LECHE**

**HORA:** \_\_\_\_\_

**FECHA:** \_\_\_\_\_

**CANTIDAD OBTENIDA:** \_\_\_\_\_

**FECHA DE NACIMIENTO DEL NIÑO:** \_\_\_\_\_